



UNIVERSIDAD NACIONAL DE CUYO
FACULTAD DE CIENCIAS APLICADAS A LA
INDUSTRIA



EVALUACIÓN DE LA CINÉTICA FERMENTATIVA DE
***Saccharomyces cerevisiae* BIOACIDIFICADORA**

“TESIS PRESENTADA COMO REQUISITO PARA OBTENER EL
TÍTULO DE LICENCIADO EN ENOLOGÍA”

Apellido y Nombre del autor: PASTORINO AUBRY, Sofia

Apellido y Nombre del Director de Tesis: PRENDES, Luciana Paola

Octubre 2025



UNCUYO
UNIVERSIDAD
NACIONAL DE CUYO



FACULTAD DE
CIENCIAS APLICADAS
A LA INDUSTRIA

ACADÉMICA
SECRETARÍA
ACADÉMICA

EVALUACIÓN DE LA CINÉTICA FERMENTATIVA DE
Saccharomyces cerevisiae BIOACIDIFICADORA

PASTORINO AUBRY, Sofía

La presente tesis fue aprobada por:

Nombre y Firma (Evaluador/a 1)	Fecha
Nombre y Firma (Evaluador/a 2))	Fecha
Nombre y Firma (Evaluador/a 3)	Fecha
Director/a de Tesis	Fecha
Codirector/a de Tesis	Fecha

**FACULTAD DE CIENCIAS APLICADAS A LA INDUSTRIA-
UNIVERSIDAD NACIONAL DE CUYO, SAN RAFAEL, 2025**

AGRADECIMIENTOS

Quiero agradecer especialmente a la directora de esta tesis, Luciana Prendes, por acompañarme durante este proceso y siempre estar a disposición para brindar sus conocimientos.

A la Universidad Nacional de Cuyo, que ha formado parte de mi educación desde el nivel secundario, y en particular a la Facultad de Ciencias Aplicadas a la Industria, por ofrecer una formación de calidad en el marco de una universidad pública.

A la Bodega Alta Vista, por brindarme las herramientas para desarrollar mi tesis.

A mi familia, por el apoyo incondicional y por celebrar conmigo cada logro a lo largo de este camino.

A mis amigas, Malena, Lucía y Victoria, por su compañía y aliento.

A Alex, por motivarme y brindarme siempre sus conocimientos en Enología.

ÍNDICE GENERAL

1. INTRODUCCIÓN	1
2. MARCO TEÓRICO	3
2.1 Contexto actual de la vitivinicultura	3
2.2 Cambios en las preferencias del consumidor	4
2.3 Implicancias del aumento de alcohol y pH	5
2.4 Alternativas tecnológicas	6
2.4.1 Prácticas vitícolas	6
2.4.2 Prácticas prefermentativas	8
2.4.3 Prácticas posfermentativas	9
2.4.4 Prácticas microbiológicas	11
2.4.4.1 Elección de levaduras <i>S. cerevisiae</i> con baja producción de etanol	11
2.4.4.2 Aislamiento de levaduras no- <i>Saccharomyces</i>	12
2.5 Bioacidificación	13
2.5.1 Fermentación alcohólica	13
2.5.2 Rutas metabólicas del ácido málico durante fermentación alcohólica	14
3. METODOLOGÍA	17
3.1 Uvas para la elaboración	17
3.2 Microorganismos empleados	17
3.3 Elaboración del vino	18
3.3.1 Diseño experimental	18
3.3.2 Encubado	18
3.3.3 Preparación del inóculo de levaduras para la siembra	18
3.3.4 Inicio de la fermentación alcohólica y seguimiento	18
3.3.5 Finalización de la fermentación alcohólica	19
3.4 Análisis fisicoquímico del mosto	19
3.4.1 Sólidos solubles, alcohol potencial y azúcar	19
3.4.2 Acidez total y pH	20
3.4.3 Anhídrido sulfuroso libre	20
3.4.4 Nitrógeno fácilmente asimilable	20
3.5 Análisis fisicoquímico del vino	21
3.5.1 Azúcares reductores	21
3.5.2 Alcohol etílico	21
3.5.3 Acidez total y pH	22
3.5.4 Acidez volátil	22
3.5.5 Análisis de diferentes compuestos orgánicos de interés en el vino	23
3.6 Análisis estadístico de los datos	23
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	25
4.1. Parámetros fisicoquímicos del mosto	25
4.2. Cinética fermentativa y temperatura	25
4.3. Parámetros fisicoquímicos del vino terminado	29

4.3.1 Producción de etanol	29
4.3.2 Alcohol potencial y tasa de conversión de azúcares en etanol	29
4.3.3 Acidez total, acidez volátil y pH	31
4.3.4 Producción de ácido málico y otros metabolitos	32
4.4. Limitaciones del estudio	35
5. CONCLUSIONES	36
BIBLIOGRAFÍA	36
ANEXO A. Ficha Técnica Zymaflore™ FX10.	45
ANEXO B. Ficha Técnica Zymaflore™ KLIMA.	47
ANEXO C. Ficha Técnica SUPERSTART®.	49
ANEXO D. Ficha Técnica NUTRISTART®.	50
ANEXO E. Resolución OIV-OENO 466-2012 (OIV, 2012).	52

ÍNDICE DE TABLAS

	Descripción	Pág.
Tabla 1	Parámetros físicoquímicos de los mostos antes de la fermentación alcohólica.	25
Tabla 2	Parámetros de acidez de las cepas FX10 y KLIMA al finalizar la fermentación alcohólica y su comparación entre tratamientos.	31
Tabla 3	Resultados del análisis físicoquímico complementario con autoanalizador de las cepas FX10 y KLIMA.	32

ÍNDICE DE FIGURAS

	Descripción	Pág.
Figura 1	Metabolismo de los ácidos orgánicos de <i>S. cerevisiae</i> (Adaptado de Vion et al., 2024).	16
Figura 2	Imagen satelital del viñedo ubicado en Las Compuertas (Luján de Cuyo, Mendoza, Argentina).	18
Figura 3	Evolución de la densidad promedio (g/mL) durante la fermentación alcohólica (días) de las cepas KLIMA y FX10.	26
Figura 4	Velocidad fermentativa (g/L) por intervalos diarios de las cepas KLIMA y FX10.	27
Figura 5	Evolución de la temperatura promedio (°C) durante la fermentación alcohólica (días) de las cepas KLIMA y FX10.	28
Figura 6	Producción de etanol promedio para las cepas KLIMA y FX10.	29
Figura 7	Tasa de conversión de azúcares en etanol promedio para las cepas KLIMA y FX10.	30

DECLARACIÓN

“Declaro que el material incluido en esta tesis es, a mi mejor saber y entender, original producto de mi propio trabajo (salvo en la medida en que se identifique explícitamente las contribuciones de otros), y que este material no lo he presentado, en forma parcial o total, como una tesis en esta u otra institución”.

Sofía Pastorino Aubry

RESUMEN

EVALUACIÓN DE LA CINÉTICA FERMENTATIVA DE *Saccharomyces cerevisiae* BIOACIDIFICADORA

Este estudio surgió como respuesta a un desafío creciente en la industria vitivinícola: la elaboración de vinos a partir de mostos con elevada concentración de azúcar y poca acidez. Esta problemática se intensifica en un contexto de cambio climático global y en un mercado que demanda vinos con menor grado alcohólico. Diversas alternativas se han propuesto a lo largo de los años para abordar este problema, que incluyen ajustes en las prácticas vitícolas y modificaciones en las etapas prefermentativa, fermentativa y posfermentativa. El objetivo de este trabajo fue evaluar la cinética fermentativa de *Saccharomyces cerevisiae* bioacidificadora para determinar su viabilidad en el proceso fermentativo y, como resultado, obtener vinos más frescos y de menor grado alcohólico. Para ello, se realizó un ensayo con mosto Malbec de Luján de Cuyo (Mendoza), empleando dos cepas de *S. cerevisiae* para la fermentación alcohólica: Zymaflore™ FX10 (Laffort, Francia) como cepa convencional productora de etanol y Zymaflore™ KLIMA (Laffort, Francia) como cepa bioacidificadora capaz de producir etanol y ácido málico. Como resultado, KLIMA presentó una cinética fermentativa más lenta, completando la fermentación alcohólica en 9 días, mientras que FX10 la finalizó en 7 días. Los vinos obtenidos con KLIMA presentaron un menor grado alcohólico (13,87% v/v), mayor acidez total (7,78 g/L), pH más bajo (3,77) y menor acidez volátil (0,50 g/L) en comparación con los elaborados con FX10 (14,3% v/v; 6,62 g/L; 3,82; y 0,62 g/L, respectivamente) (ANOVA, $p < 0,05$, Tukey). Aunque la concentración de ácido málico fue similar en ambos tratamientos, KLIMA mostró mayores concentraciones de ácido láctico (0,52 g/L) y glicerol (13,18 g/L) que FX10 (0,03 g/L; 9,31 g/L, respectivamente) mediante análisis de FT-IR. Los resultados demuestran que la cepa bioacidificadora estudiada representa una alternativa viable para elaborar vinos Malbec más frescos y equilibrados, acordes a las demandas actuales.

Palabras claves: *Saccharomyces cerevisiae* bioacidificadora - cinética fermentativa - ácido málico - grado alcohólico

ABSTRACT

EVALUATION OF THE FERMENTATION KINETICS OF BIO-ACIDIFYING

Saccharomyces cerevisiae

This study addresses a growing challenge in the wine industry: the production of wines from musts with high sugar concentration and low acidity. This issue is becoming increasingly relevant in the context of global climate change and in a market that demands wines with lower alcohol content. Over the years, various alternatives have been suggested to address this issue, including changes in viticultural practices and modifications in the pre-fermentative, fermentative, and post-fermentative stages. The aim of this work was to evaluate the fermentative kinetics of a bioacidifying *Saccharomyces cerevisiae* strain in order to determine its viability in the fermentation process and, as a result, obtain wines with enhanced acidity and lower alcohol content. In this study, a Malbec must from Luján de Cuyo (Mendoza), was used to carry out alcoholic fermentation with two strains of *S. cerevisiae*: Zymaflore™ FX10 (Laffort, France) as the conventional ethanol-producing strain and Zymaflore™ KLIMA (Laffort, France) as the bioacidifying strain capable of producing both ethanol and malic acid. As a result, KLIMA exhibited a slower fermentation kinetics, completing alcoholic fermentation in 9 days, while FX10 finished it in 7 days. KLIMA showed a lower alcohol content (13.87% v/v), higher total acidity (7.78 g/L), lower pH (3.77), and lower volatile acidity (0.50 g/L) compared to those produced with FX10 (14.3% v/v; 6.62 g/L; 3.82; and 0.62 g/L, respectively) (ANOVA, $p < 0,05$, Tukey). Although malic acid concentration was similar in both treatments, KLIMA exhibited higher concentrations of lactic acid (0.52 g/L) and glycerol (13.18 g/L) than FX10 (0.03 g/L and 9.31 g/L, respectively), according to FT-IR analysis. The results demonstrate that the bioacidifying strain studied represents a viable alternative for producing fresher and more balanced Malbec wines, in line with current market demands.

Keywords: bioacidifying *Saccharomyces cerevisiae* - fermentation kinetics - malic acid - alcohol content

1. INTRODUCCIÓN

La industria vitivinícola se encuentra frente a un desafío al momento de elaborar vinos a partir de mostos con elevada concentración de azúcar y poca acidez, en un mercado cuya demanda ha aumentado en los últimos años hacia el consumo de bebidas con menor contenido alcohólico e incluso, bebidas sin alcohol. Estas condiciones de los mostos suelen dar lugar a fermentaciones largas, con el riesgo de posibles paradas fermentativas, y vinos con alto grado alcohólico, lo que contrasta con la tendencia actual dirigida hacia el consumo de vinos más frescos y de menor graduación alcohólica.

En el contexto actual de cambio climático global, que compromete principalmente áreas cálidas, es un fenómeno cada vez más evidente donde el mayor aumento de temperatura puede producir vinos desequilibrados, con alto contenido de alcohol (como resultado de altos niveles de azúcar) y menor acidez.

Para lograr un equilibrio adecuado entre azúcar, alcohol y acidez, existen diversas estrategias que incluyen prácticas vitícolas, así como prefermentativas, posfermentativas y microbiológicas. Dentro de alternativas microbiológicas, existe la posibilidad de utilizar cepas seleccionadas de levaduras capaces de bioacidificar el medio durante la fermentación alcohólica y representan una herramienta importante para conservar un nivel de acidez más elevado en los vinos y, al mismo tiempo, reducir la concentración de etanol. Se pueden emplear cepas comerciales no-*Saccharomyces* como *Lachancea thermotolerans*, una levadura autóctona de la uva capaz de metabolizar glucosa y fructosa en ácido L-láctico sin formación de etanol. Sin embargo, al no tener la capacidad de completar la fermentación alcohólica, es necesario realizar co-inoculaciones o inoculaciones secuenciales con cepas de *Saccharomyces cerevisiae*.

De especial interés resulta la utilización de cepas seleccionadas de *S. cerevisiae* con bajo poder desacidificante, es decir que, metabolizan menor cantidad de ácido málico durante la fermentación alcohólica e incluso tienen la capacidad de producir pequeñas cantidades de este ácido. Este metabolismo resulta en una disminución de la cantidad de etanol producido por azúcar, debido a que las levaduras desvían parcialmente el metabolismo de azúcares hacia la producción de metabolitos distintos al etanol y puede emplearse para elaborar vinos de menor graduación alcohólica. Además, la capacidad de conservar y producir ácido málico no solo aporta frescura a nivel sensorial por sus efectos en el pH y acidez total, sino que también contribuye a la estabilidad física, química y microbiológica del vino.

Los avances en la microbiología enológica ofrecen nuevas prácticas para la fermentación de

vinos y contribuyen al desarrollo de estrategias que permiten adaptarse a las nuevas demandas de los consumidores en un contexto de cambio climático a nivel global. No obstante, el análisis de la fermentación de estas cepas bioacidificadoras resulta crucial para definir su aplicación en vinificación, debido a su complejidad metabólica, lo que a su vez permite optimizar el proceso y mejorar los resultados en la producción de vinos de menor graduación alcohólica y mayor acidez.

Como **hipótesis** del trabajo se planteó que la cepa seleccionada de *S. cerevisiae*, productora de ácido málico y etanol durante la fermentación alcohólica, mostrará una cinética fermentativa distinta a la de la cepa productora únicamente de etanol, y que los vinos resultantes tendrán una menor graduación alcohólica y una mayor acidez.

El **objetivo general** del proyecto fue evaluar la cinética fermentativa de una cepa seleccionada de *S. cerevisiae* que produce etanol y ácido málico durante la fermentación alcohólica, así como las características fisicoquímicas de los vinos resultantes, comparándola con una cepa tradicional que produce principalmente etanol.

Los **objetivos específicos** fueron:

- a- Realizar el seguimiento de la cinética fermentativa mediante la medición de la densidad durante la fermentación alcohólica, tanto para *S. cerevisiae* bioacidificadora como para *S. cerevisiae* tradicional, y calcular parámetros derivados como la velocidad fermentativa, identificando posibles diferencias en el consumo de azúcares.
- b- Monitorear la temperatura durante la fermentación en ambos tratamientos, evaluando su impacto en la cinética fermentativa.
- c- Evaluar y comparar los parámetros fisicoquímicos más importantes (etanol, pH, acidez total, acidez volátil y azúcares reductores) de los vinos resultantes y parámetros derivados como la tasa de conversión de azúcares en etanol y alcohol potencial.
- d- Evaluar la producción de ácido málico y otros metabolitos por la cepa de levadura bioacidificadora en los vinos terminados en comparación con la cepa convencional.

2. MARCO TEÓRICO

2.1 Contexto actual de la vitivinicultura

La vid se cultiva en una gran diversidad de climas, siendo este un factor clave para la producción de vino. La mayoría de las principales regiones vitivinícolas se localizan entre los paralelos 35 y 50 en el hemisferio norte, y entre los paralelos 30 y 45 en el hemisferio sur (van Leeuwen & Darriet, 2016). Estas regiones vitivinícolas están experimentando los efectos del cambio climático, siendo especialmente afectadas las áreas de clima cálido y seco (Keller, 2023). Los constantes incrementos de dióxido de carbono y otras emisiones generadas por el ser humano intensifican el efecto invernadero, provocando un aumento de las temperaturas que afecta de manera directa la producción agrícola (Vion *et al.*, 2024). Se destacan entre los efectos más importantes: el adelanto de los tiempos de cosecha, mayores concentraciones de azúcar en la uva que conducen a niveles elevados de alcohol en el vino, acidez más baja y modificaciones de los compuestos aromáticos varietales (Mira de Orduña, 2010).

Un ejemplo se observa en la provincia de Mendoza (Argentina), una de las principales regiones productoras de vino del hemisferio sur. A partir de un análisis realizado por Straffelini *et al.* (2023), se constató que la temperatura máxima aumentó en promedio 0,7 °C en el período 2010-2020 en comparación con 1961-2009. Este incremento, sumado a períodos de sequía, olas de calor intensas y un aumento de las precipitaciones extremas, compromete el desarrollo de las bayas, afectando la cantidad y calidad del vino, y favorece procesos de erosión del suelo que ponen en riesgo la integridad de los viñedos (Straffelini *et al.*, 2023).

En los últimos años, se ha observado un aumento de hasta 2% v/v en el contenido alcohólico de los vinos, atribuido a climas más cálidos y a un cambio en las preferencias del consumidor por aromas y sabores de fruta madura (Longo *et al.*, 2017; Varela *et al.*, 2015). Además, la optimización de la madurez polifenólica y aromática ha llevado a realizar cosechas más tardías (Jordão *et al.*, 2015).

Actualmente, es cada vez más frecuente cosechar uvas con un alcohol potencial superior al 14% v/v, lo cual puede resultar excesivo para alcanzar una calidad óptima en la mayoría de los vinos (van Leeuwen & Darriet, 2016). Godden *et al.* (2015) reportaron un aumento en las concentraciones promedio de alcohol en vinos australianos: en los vinos blancos, el contenido alcohólico pasó de 12,5% v/v en 1985 a 13,16% v/v en 2005, estabilizándose posteriormente; mientras que en los vinos tintos, aumentó de 12,4% v/v en 1984 a un máximo de 14,5% v/v en 2005, y luego se mantuvo cercano a 14% v/v.

Argentina sigue las mismas tendencias observadas a nivel global. Según Catelén (2022), el

Instituto Nacional de Vitivinicultura (INV) fijó para el año 2000 un contenido mínimo de alcohol de 11,6% v/v en los vinos. Luego, se observó un incremento sostenido en los contenidos de azúcar y, por ende, en el grado alcohólico de los vinos tintos y blancos, que pasó del 12% v/v en 2010 a valores de 13,2% v/v en vinos tintos y rosados y de 12,8% v/v en blancos en 2020 (Catelén, 2022).

En el contexto actual de cambio climático, se ha vuelto evidente el aumento gradual del grado alcohólico y el pH. El aumento de temperaturas promedio y los cambios en la distribución de las precipitaciones afectan la fisiología de la vid, influyendo en su crecimiento, rendimiento y composición de los frutos, lo que genera un desequilibrio en la calidad del vino (Kontoudakis *et al.*, 2011; Martínez-Moreno *et al.*, 2023). También resulta en menor acidez debido al aumento de la respiración celular de los ácidos, su neutralización o salificación por cationes (principalmente potasio), así como la dilución por el aporte de agua en los granos de uva durante la maduración (Hidalgo Togores, 2010).

2.2 Cambios en las preferencias del consumidor

Los vinos de color intenso, complejos, con buen cuerpo y con sabores a fruta madura han sido tradicionalmente preferidos por los consumidores (Morales *et al.*, 2015; Varela *et al.*, 2015), por lo que se volvió necesario optimizar los procesos de extracción de compuestos fenólicos. Esto derivó en cosechas tardías ya que, si no se ha alcanzado el grado óptimo de madurez, se pueden extraer compuestos amargos, herbáceos, y un exceso de astringencia (Kontoudakis *et al.*, 2011). Frente a esta situación, los enólogos eligen priorizar la madurez fenólica en las uvas y dejar de lado el punto de madurez industrial, lo que resulta en uvas con alta concentración de azúcar y baja acidez (Mira de Orduña, 2010; Kontoudakis *et al.*, 2011).

En los últimos años, los hábitos de consumo han evolucionado hacia estilos de vida más saludables. Este fenómeno ha impulsado cambios e innovaciones en la industria vitivinícola, orientados a satisfacer la creciente demanda de bebidas con menor contenido alcohólico e incluso alternativas sin alcohol (Bucher *et al.*, 2018). Dicha demanda reflejó un incremento superior al 7% en el volumen de estas bebidas en los 10 principales mercados globales en 2022 (Afonso *et al.*, 2024).

Estos cambios se deben, en parte, a políticas impulsadas por gobiernos, para concientizar sobre el consumo moderado de bebidas alcohólicas. Además, la creciente conciencia sobre los efectos perjudiciales del alcohol en la salud ha influido en las decisiones de compra de los consumidores (Bucher *et al.*, 2018), aumentando la preferencia por opciones con menor contenido alcohólico que no solo podrían contribuir a disminuir el aporte calórico del vino, sino también a mitigar los efectos negativos asociados con su consumo (Teng *et al.*, 2020).

A pesar del creciente interés de los productores por reducir el grado alcohólico del vino, es importante hacerlo sin comprometer la calidad del vino, la aceptación por parte de los consumidores ni aumentar los costos de producción (Varela *et al.*, 2015). Según Longo *et al.* (2017), menores concentraciones de etanol pueden provocar la pérdida de compuestos volátiles, como los ésteres, que contribuyen al perfil sensorial del vino. Esto puede generar rechazo en el consumidor y reducir su disposición a adquirir vinos con bajo grado alcohólico. Por lo que se han desarrollado diversas soluciones tecnológicas que permiten a la industria adaptarse a los constantes cambios en las demandas y tendencias del mercado.

2.3 Implicancias del aumento de alcohol y pH

El aumento de la concentración de azúcar en la uva, que conduce a niveles elevados de alcohol en el vino y acidez más baja, tiene consecuencias a nivel microbiológico, tecnológico, sensorial y económico (Mira de Orduña, 2010).

En cuanto al aspecto microbiológico, las levaduras difieren en su respuesta a condiciones de estrés generados por factores adversos durante la fermentación alcohólica (Ferreira *et al.*, 2006). Entre estos factores, se encuentran las altas concentraciones de azúcar que pueden inhibir el crecimiento de levaduras o incluso provocar su lisis, lo que puede derivar en fermentaciones enlentecidas o detenidas (Mira de Orduña, 2010). Esto ocurre debido al elevado estrés osmótico al que están expuestas al momento de la inoculación, ya que se encuentran en condiciones hipertónicas que provocan la pérdida de turgencia y reducen su capacidad para iniciar el crecimiento (Ferreira *et al.*, 2006).

Con respecto al pH, valores bajos favorecen la estabilidad microbiológica y la conservación del vino al influir en los equilibrios entre las distintas formas del anhídrido sulfuroso: anhídrido sulfuroso molecular, ácido sulfuroso y bisulfito. Las dos primeras constituyen la fracción libre, también conocida como la forma "activa", responsable de las propiedades antisépticas y antioxidantes (Hidalgo Togores, 2010; Ribéreau-Gayon *et al.*, 2003a). A pH bajos (3,0-3,2) predomina la fracción molecular, proporcionando niveles altos de protección, mientras que a pH más altos disminuye su eficacia, debido a que aumenta la proporción de bisulfito, que carece de estas propiedades por encontrarse combinado con otros compuestos. Por lo tanto, a pH elevados, se requieren dosis mayores de anhídrido sulfuroso para lograr el mismo nivel de efectividad (Vion *et al.*, 2024).

Desde el punto de vista tecnológico y sensorial, la tendencia hacia pH más elevados y niveles bajos de acidez favorece reacciones oxidativas que impactan en el color, sabor y aroma del vino (Mira de Orduña, 2010). La acidez es esencial para el perfil sensorial del vino, ya que

proporciona "frescura", una cualidad muy apreciada por los consumidores. En cambio, los vinos con acidez muy baja son descritos como apagados y planos, con aromas y sabores poco definidos y una menor persistencia en el paladar (Vion *et al.*, 2024). Con respecto al color, el pH influye en los equilibrios de las formas antociánicas: catión flavilio, de color rojo; base quinónica, de color azul; hemiacetal, incolora; y chalcona, de color amarillo muy pálido (Ribéreau-Gayon *et al.*, 2003b). Al variar el pH, se modifican los equilibrios mediante reacciones de ácido-base, adición o eliminación de agua e isomerización (Dangles & Fenger, 2018), favoreciendo una mayor proporción de antocianinas hemiacetales incoloras, lo que reduce el color de vinos tintos jóvenes (Mira de Orduña, 2010).

El etanol influye en diversos parámetros sensoriales del vino como la viscosidad y la dulzura. Concentraciones elevadas de etanol pueden reducir la complejidad aromática de un vino y aumentar las sensaciones de "calor" y "amargor" (Varela *et al.*, 2015). Según Mira de Orduña (2010), el etanol afecta la volatilidad de compuestos volátiles del vino como alcoholes superiores, ésteres, monoterpenos y pirazinas. Además, es responsable de incrementar la sensación metálica en boca, modificar la percepción de lo dulce y lo ácido, y reducir la astringencia percibida (Afonso *et al.*, 2024).

Con respecto a lo económico, comercializar vinos de elevada graduación alcohólica puede implicar mayores costos, reflejándose en un aumento del precio final del producto. Esto se debe a que en algunos países se aplican impuestos adicionales a las bebidas alcohólicas cuando el contenido de alcohol supera un límite establecido. Por ejemplo, el gobierno de Estados Unidos aplica un impuesto de \$0,50 más por galón de vino que supere el 14% v/v (Alston *et al.*, 2015).

2.4 Alternativas tecnológicas

Con el objetivo de disminuir la graduación alcohólica y el pH, se han desarrollado diversas estrategias tecnológicas, las cuales se clasifican en prácticas vitícolas, prefermentativas, posfermentativas y microbiológicas.

2.4.1 Prácticas vitícolas

La concentración de alcohol del vino está principalmente determinada por la concentración de azúcar en las uvas al momento de la cosecha (Varela *et al.*, 2015).

- Deshoje: La relación entre el área foliar/peso de la fruta impacta en la velocidad de maduración y en la composición de las uvas, y es lo que determina principalmente la concentración de azúcares (Stoll *et al.*, 2010). Stoll *et al.* (2010) evaluaron en Riesling que la reducción de la relación entre el área foliar/peso de la fruta en un 28% a 57%, provocó un

retraso en la madurez de 14 a 20 días, con una disminución de 4 °Brix aproximadamente sin afectar la acidez total ni el pH. De manera similar, Martínez de Toda *et al.* (2013) determinaron que un deshoje severo realizado después del cuaje retrasó la maduración de Garnacha y Tempranillo. Al momento de la cosecha, las uvas mostraron niveles menores de sólidos solubles, con una reducción aproximada del 2% v/v en el alcohol potencial, así como menor pH y contenido total de antocianinas. El deshoje, además de equilibrar la relación entre la carga de fruta y la vegetación, permite manipular el microclima de la canopia, logrando mejoras en la calidad de las uvas, aunque sus resultados son variables por la interacción de factores como clima, variedad y suelo (O'Brien *et al.*, 2021).

- Riego precosecha: En la fase final de maduración, el riego puede mitigar pérdidas por deshidratación y, en climas cálidos, aumentar la acidez al favorecer la síntesis de ácido tartárico, mientras que el déficit hídrico reduce la acidez al acelerar la degradación del ácido málico (Mendez *et al.*, 2011; Balint & Reynolds, 2014). En la región central de California, se estudió el efecto del riego en Merlot durante las etapas finales de maduración del fruto, desde los 20 °Brix hasta la cosecha (Mendez *et al.*, 2011). Los resultados mostraron que el riego tuvo un impacto mínimo en parámetros de composición de las bayas, como el pH, el ácido málico, los fenoles totales y las antocianinas. Tratamientos de riego similares no mostraron diferencias significativas en la composición del vino (Junquera *et al.*, 2012; Balint & Reynolds, 2014).

- Uso de reguladores de crecimiento: Aplicar de forma exógena reguladores de crecimiento, en la zona de los racimos o en toda la canopia, podría ser útil para retrasar el inicio de la maduración de los azúcares (Varela *et al.*, 2015). Existen investigaciones que sugieren que tanto el etileno como el ácido abscísico desempeñan un papel en el control de la maduración del fruto, incluyendo el desarrollo del color, mientras que el nivel de auxinas normalmente se reduce al inicio de este proceso (Symons *et al.*, 2006; Novello & De Palma, 2013). En un estudio con auxinas, específicamente ácido 1-naftalenacético aplicado a Syrah, se observaron mejoras en la sincronización en la acumulación de azúcares entre las uvas y retrasos en la maduración sin afectar la calidad del vino, lo que sugiere que estos tratamientos podrían ser útiles para controlar la composición del fruto (Böttcher *et al.*, 2011).

- Determinación de fecha de cosecha: Cosechar de forma temprana puede ser una alternativa sencilla para disminuir la graduación alcohólica en los vinos. Sin embargo, la fecha de

cosecha influye de manera significativa en el perfil sensorial, ya que las uvas menos maduras contienen más aromas herbáceos, menor extractabilidad de antocianinas y proantocianidinas del hollejo y mayor extractabilidad de proantocianidinas de las semillas, lo que suele aportar un exceso de astringencia y notas herbáceas a los vinos (Novello & De Palma, 2013). Esta estrategia no es adecuada para todas las variedades, como Cabernet Sauvignon, donde el exceso de aromas herbáceos puede resultar indeseable. Durante la maduración, disminuyen compuestos como las metoxipirazinas y aumentan compuestos positivos como antocianinas, taninos y compuestos volátiles (Teng *et al.*, 2020; Coombe & McCarthy, 2000).

2.4.2 Prácticas prefermentativas

- Dilución con agua: Si bien la adición de agua a los mostos para disminuir la concentración de sólidos solubles podría ser una estrategia efectiva, es una práctica prohibida por las legislaciones de muchos países, incluida Argentina. Respecto al uso del agua, la Ley General de Vino N° 14.878/1959, en su Art. 20 establece la prohibición de “la adición de agua al mosto o vino en cualquier cantidad, forma o momento, [...] y en general sustancias no autorizadas específicamente”, definiendo al producto como “no genuino” y quedando prohibida su comercialización o liberación al consumo. En otros países, la adición de agua está restringida a necesidades técnicas específicas.

- Blend de mostos: Consiste en mezclar mostos de uvas con diferentes grados de maduración para ajustar la concentración final de azúcar y, por lo tanto, el grado alcohólico del vino (Catelén, 2022). Sin embargo, es difícil predecir el perfil sensorial del vino resultante ya que las uvas cosechadas temprano pueden aportar un exceso de caracteres "herbáceos" o "verdes" produciendo mostos desequilibrados y, en consecuencia, perfiles de sabor menos deseables (Varela *et al.*, 2015).

- Agregado de enzimas: La enzima glucosa oxidasa, obtenida del hongo *Aspergillus niger*, convierte la β -D-glucosa en D-glucono- β -lactona, liberando peróxido de hidrógeno, y luego cataliza la conversión a ácido glucónico en presencia de oxígeno (Afonso *et al.*, 2024). Por esta razón, tiene el potencial de reducir los azúcares destinados a la producción de etanol en vinos. Aunque el ácido glucónico está siempre presente en mostos y vinos, en aquellos derivados de una cosecha sana y madura su concentración no supera los 200-300 mg/L (OIV, 2025). Este ácido puede aumentar debido a la sobremaduración por pasificación y por la intervención de *Botrytis cinerea*, no presenta límites legales y su presencia en niveles elevados no necesariamente se considera un signo de mala calidad (OIV, 2025). En Sudáfrica, Biyela *et al.* (2009) utilizaron preparados comerciales de glucosa oxidasa y obtuvieron hasta

un 0,68% v/v menos en el contenido alcohólico del vino al finalizar la fermentación, utilizando una concentración enzimática de 30 kU.

- Nanofiltración: La nanofiltración consiste en pasar mosto de uva a través de una membrana bajo presión para separar el permeado, que contiene menos azúcar, y el retenido, con una mayor concentración de azúcar (Varela *et al.*, 2015). Luego, ambos productos se mezclan en proporciones específicas para obtener un mosto con menos azúcar que el mosto sin tratar. García-Martín *et al.* (2011) evaluaron nanofiltraciones dobles y lograron una reducción de etanol del 3,4% en vinos blancos y 1,8% en tintos respecto a los controles. Sin embargo, se redujeron significativamente los compuestos fenólicos, causando pérdida de color, y se detectaron cambios en aroma y sabor durante el análisis sensorial.

2.4.3 Prácticas posfermentativas

- Blend de vinos: Consiste en mezclar vinos de alto contenido alcohólico que hayan alcanzado la madurez fenólica con otros de menor graduación alcohólica y mayor acidez, elaborados a partir de una cosecha temprana o de mostos verdes obtenidos mediante el raleo de racimos (Catelén, 2022). Estos vinos “verdes” suelen tratarse con carbón activado y bentonita para reducir compuestos fenólicos y aromas herbáceos (Kontoudakis *et al.*, 2011). Numerosos estudios han demostrado que esta estrategia permitió obtener vinos con un pH más bajo, menor contenido de alcohol y mayor concentración de compuestos fenólicos, especialmente de antocianinas y taninos (Martínez-Moreno *et al.*, 2023; Catelén, 2022; Kontoudakis *et al.*, 2011), siendo una técnica sencilla y de bajo costo para las bodegas.

- Remoción de etanol por métodos físicos: Estos métodos aplican procesos físicos para reducir parcial o totalmente el contenido de etanol en el vino, incluyendo procesos basados en membranas y procesos térmicos.

En la ósmosis inversa, se aplican presiones de 60 a 80 bar para forzar el paso de agua y etanol a través de una membrana semipermeable, reteniendo el resto de los compuestos (Afonso *et al.*, 2024). Gil *et al.* (2013) observaron que una reducción de hasta 2% v/v solo provocó leves cambios en acidez, polisacáridos y antocianos. La destilación osmótica (o pervaporación) se emplea como segundo paso para tratar el permeado (Schmitt & Christmann, 2019), permitiendo el paso de compuestos volátiles; sin embargo, reducciones de 5% v/v implicaron pérdidas significativas de ésteres y alcoholes superiores (Lisanti *et al.*, 2013).

En la perstracción evaporativa, el etanol se transfiere a una fase acuosa a través de una membrana hidrofóbica, aunque se ha reportado una pérdida de hasta 20% de compuestos

aromáticos con reducciones del 2% v/v (Diban *et al.*, 2013).

La destilación al vacío permite separar el etanol a bajas temperaturas gracias a la reducción de la presión (Catelén, 2022). Una disminución del 2% v/v puede reducir hasta un 45% los ésteres y un 25% los alcoholes superiores (Aguera *et al.*, 2010). En Chardonnay desalcoholizado al 3,36% v/v, ciertos compuestos volátiles dejaron de ser detectables, alterando de forma importante el perfil aromático (Petrozziello *et al.*, 2019).

La desalcoholización con columnas de conos rotatorios se realiza en dos etapas: primero, el vino pasa a temperatura moderada (26-28 °C) y baja presión (0,04 atm) para extraer los aromas; luego, se reduce el alcohol a mayor presión y temperatura (38 °C) y se reincorporan los aromas recuperados (Afonso *et al.*, 2024). Loyola García *et al.* (2021) compararon esta técnica con la ósmosis inversa para reducir el alcohol al 6% v/v, observando que los vinos obtenidos con conos rotatorios fueron menos preferidos por su elevada acidez, mientras que la ósmosis inversa destacó por mayor dulzor y calidad sensorial.

- Correcciones de acidez: La acidez en vinos incluye la acidez total, volátil, fija y el pH, parámetros clave para lograr un equilibrio adecuado (Hidalgo Togores, 2010). La acidificación directa se realiza con ácidos orgánicos autorizados, principalmente con ácido tartárico L(+), capaz de aumentar la acidez total en 1,5 g/L por cada 1 g/L añadido (Ribéreau-Gayon *et al.*, 2003a). Por su “poder tampón”¹, se recomienda acidificar tras la fermentación alcohólica y antes de la estabilización por frío, para minimizar pérdidas por precipitación de tartratos (Hidalgo Togores, 2010). El ácido cítrico, limitado a dosis de 1 g/L, puede aportar notas a limón y ser metabolizado por bacterias lácticas, elevando la acidez volátil y generando aromas indeseables (Ribéreau-Gayon *et al.*, 2003a; Hidalgo Togores, 2010). El ácido láctico L(+) cuenta con varias ventajas, como su efectividad para lograr el descenso del pH, estabilidad microbiológica y sensaciones gustativas y aromáticas agradables (Hidalgo Togores, 2010). En un estudio, vinos acidificados con ácido láctico se percibieron más equilibrados que los tratados con tartárico, aunque con mayor acidez volátil (Landin Ross-Magahy, 2021).

Las resinas de intercambio catiónico, regeneradas con ácidos minerales, sustituyen cationes del vino por H⁺, reduciendo el pH y mejorando la estabilidad tartárica y disminuyendo metales relacionados con el pardeamiento (Hidalgo Togores, 2010). Ponce *et al.* (2018) reportaron que el uso de resinas en vinos blancos y tintos redujo el pH, mejoró la estabilidad

¹ Capacidad de mantener un pH estable ante la adición de un ácido o una base fuerte, lo que le confiere cierta resistencia a la modificación del pH (Vion *et al.*, 2024).

tartárica y disminuyó metales relacionados con el pardeamiento.

2.4.4 Prácticas microbiológicas

2.4.4.1 Elección de levaduras *S. cerevisiae* con baja producción de etanol

El uso de levaduras seleccionadas puede considerarse una herramienta simple y efectiva para reducir el contenido de alcohol de los vinos. *S. cerevisiae* es la cepa de levadura mejor adaptada a la fermentación de mosto de uva debido a su eficiencia en la conversión de azúcar en etanol y su resistencia a las condiciones estresantes durante la fermentación alcohólica (Varela *et al.*, 2015). *S. cerevisiae* no solo completa la fermentación, transformando los azúcares (glucosa y fructosa) del mosto en etanol y anhídrido carbónico, sino que también produce metabolitos que influyen positivamente en el perfil sensorial del vino (Contreras *et al.*, 2014). En particular, el uso de *S. cerevisiae* seleccionadas con poder bioacidificante que metabolizan menores cantidades de ácido málico durante la fermentación (en condiciones normales varía entre 10 y 25%), representa una herramienta clave y de gran relevancia en el contexto actual. Estas levaduras no solo permiten conservar niveles más altos de acidez en los vinos (Hidalgo Togores, 2010), sino que también poseen metabolismos alternativos que les permiten producir pequeñas cantidades de ácido málico. Este comportamiento se traduce en una menor eficiencia en la conversión de azúcar en etanol y puede emplearse para elaborar vinos de menor graduación alcohólica.

Diversos autores han propuesto estrategias basadas en el uso de levaduras genéticamente modificadas (OGM) para producir vinos con menor contenido de alcohol. Mediante ingeniería metabólica, se busca desarrollar cepas de *S. cerevisiae* capaces de desviar parcialmente el metabolismo del carbono hacia la producción de metabolitos distintos al etanol (Varela *et al.*, 2015). Zelle *et al.* (2008) reportaron que, mediante ingeniería metabólica y el uso exclusivo de la ruta no oxidativa de reducción de oxaloacetato a malato, la cepa resultante de *S. cerevisiae* produjo concentraciones de ácido málico de hasta 59 g/L, con un rendimiento de 0,42 moles por mol de glucosa. No obstante, la posible producción excesiva de metabolitos secundarios indeseados, como acetaldehído y acetoína, que pueden afectar negativamente el perfil del vino (Afonso *et al.*, 2024), junto a las preocupaciones de los consumidores y los gobiernos sobre los OGM, en relación con la salud y el medioambiente, limitan su aplicación a escala comercial (Fleet, 2008). En este sentido, la normativa vigente de la OIV (2003) establece que la obtención y el uso de levaduras enológicas genéticamente modificadas requieren autorización previa de la autoridad competente. En Argentina, no existen registros de cepas autorizadas para vinificación; hasta el momento solo se ha aprobado la comercialización de levaduras *S. cerevisiae* genéticamente modificadas para la producción de

bioetanol (Secretaría de Agricultura, Ganadería y Pesca, 2023, 2024).

La evolución adaptativa es otra alternativa para seleccionar cepas *S. cerevisiae*. Durante miles de años, la selección natural, contraria a las tendencias actuales de reducción del etanol en vinos, ha favorecido la maximización de su producción por parte de *S. cerevisiae*, proporcionándole una ventaja selectiva frente a otros microorganismos (Varela *et al.*, 2015). Para generar levaduras de baja producción de etanol mediante evolución adaptativa, es necesario aplicar una presión selectiva que favorezca una desviación metabólica de la producción de etanol. Abalos *et al.* (2011) utilizaron furfural como inhibidor metabólico, logrando una disminución de hasta 0,6% v/v en la concentración de etanol sin afectar al perfil aromático del vino.

2.4.4.2 Aislamiento de levaduras no-*Saccharomyces*

Otra posibilidad es utilizar especies no-*Saccharomyces* presentes en la microbiota propia de la uva. Estas levaduras presentan menor rendimiento en etanol ya que, en presencia de oxígeno, derivan parte del consumo de azúcares hacia la respiración (Crabtree-negativas), aunque existen dificultades para su aplicación en fermentaciones industriales (Martín Guindal, 2023). Esto se atribuye a su menor capacidad fermentativa y baja competitividad frente a *S. cerevisiae*, consecuencia de su baja resistencia ante las condiciones estresantes del mosto. En los procesos de selección de levaduras no-*Saccharomyces*, es esencial considerar características fisiológicas y metabólicas, como la resistencia a altas concentraciones de azúcar, anhídrido sulfuroso y etanol, así como una elevada capacidad fructofílica y la capacidad de fermentar a bajas temperaturas para asegurar una colonización exitosa del medio (Mestre Furlani *et al.*, 2017). Los microorganismos también deben ser menos eficientes en la transformación de los azúcares en etanol, tener baja producción de compuestos indeseables y mayor producción de compuestos que impacten positivamente en el vino.

Las cepas no-*Saccharomyces* no son capaces de completar la fermentación alcohólica por sí solas, por lo que su uso combinado con *S. cerevisiae*, mediante inoculación secuencial o co-inoculación, se presenta como una alternativa interesante debido al impacto que las primeras tienen en la composición, el perfil aromático y el sabor de los vinos (Mestre Furlani *et al.*, 2017). Además, esta estrategia permite aprovechar los beneficios de una fermentación espontánea sin los riesgos que supone el desarrollo sin control de estas levaduras iniciadoras (Catelén, 2022). Contreras *et al.* (2014) demostraron que la inoculación secuencial de *Metschnikowia pulcherrima* seguida de *S. cerevisiae* redujo la graduación alcohólica en 0,9% v/v en Chardonnay y 1,6% v/v en Syrah, en comparación con los vinos control. Además, en ambos se observó mayor concentración de alcoholes superiores y una disminución en la acidez volátil. En el caso del Chardonnay, también hubo una mayor concentración de ésteres.

De manera similar, Ciani *et al.* (2014) reportaron reducciones de etanol que varían entre 0,64 y 1,60% v/v, mediante el uso de cepas de *Candida stellata* (reclasificada como *Starmerella bombicola*), *M. pulcherrima* y *L. thermotolerans*, seguidas de *S. cerevisiae*, en comparación con ensayos de fermentación con *S. cerevisiae* pura.

2.5 Bioacidificación

Como se mencionó previamente, el uso de levaduras seleccionadas con poder bioacidificante representa una herramienta valiosa para mantener niveles más altos de acidez en los vinos y, al mismo tiempo, reducir el contenido de alcohol (Hidalgo Togores, 2010).

2.5.1 Fermentación alcohólica

La fermentación alcohólica es un proceso bioquímico en el que los azúcares se transforman en etanol y anhídrido carbónico, junto con otros metabolitos como glicerol, acetato, succinato, piruvato, alcoholes superiores y ésteres (Hidalgo Togores, 2010). Este proceso resulta de la interacción entre tres variables principales: la composición inicial del mosto, las condiciones tecnológicas del proceso fermentativo y las cepas de levaduras presentes, siendo *S. cerevisiae* la especie dominante (Santamaría Martínez *et al.*, 1995), y es fundamental para la producción de diversas bebidas, como el vino y la cerveza (Afonso *et al.*, 2024).

Las levaduras necesitan transferir la coenzima reducida NADH a un receptor de electrones para poder regenerar el NAD⁺, y de esta manera, posibilitar la continuación de la glucólisis y la producción de ATP. Durante la fermentación alcohólica, el ácido pirúvico generado a partir de la glucólisis se descarboxila en acetaldehído, que luego se reduce a etanol catalizado por la enzima alcohol deshidrogenasa, permitiendo así la regeneración de NAD⁺ (Ribéreau-Gayon *et al.*, 2003a). El proceso de fermentación y la conversión de glucosa en etanol y CO₂ involucra la participación de 12 enzimas: 10 degradan la glucosa hasta piruvato, generando ATP para el crecimiento de la levadura, y 2 convierten el piruvato en los productos finales de la fermentación para mantener el equilibrio redox de la levadura (Afonso *et al.*, 2024).

El desarrollo de la fermentación alcohólica está directamente vinculado a las fases de crecimiento de las levaduras, que comprenden las etapas de latencia, aceleración, crecimiento exponencial, ralentización, estacionaria y declive (Hidalgo Togores, 2010). Las ralentizaciones o incluso las detenciones de la fermentación alcohólica pueden ocurrir por diversos motivos, observándose en la mayoría de los casos una disminución de la población viable de levaduras (Santamaría Martínez *et al.*, 1995). Cuando los mostos presentan un alto contenido de azúcares, gran parte de la fermentación se realiza con levaduras en fase de declive, pudiendo dificultar su finalización. Según Hidalgo Togores (2010), las levaduras no

se siguen multiplicando por la presencia de factores limitantes que inhiben su crecimiento. Entre estos factores, destaca la acumulación de sustancias segregadas por las levaduras, que pueden ser tóxicas en determinadas concentraciones, como el alcohol y los ácidos grasos de cadena media, los cuales alteran la permeabilidad de las membranas celulares. Asimismo, la disponibilidad de nitrógeno asimilable condiciona la actividad fermentativa, influyendo en la reproducción de las levaduras, su tolerancia al etanol y la velocidad de fermentación (Santamaría Martínez *et al.*, 1995).

Además, para garantizar una cinética fermentativa adecuada y la correcta finalización de la fermentación alcohólica, es fundamental controlar la temperatura, ya que es el factor de mayor incidencia en la cinética y la expresión de las sustancias aromáticas volátiles (Santamaría Martínez *et al.*, 1995). El tiempo de fermentación es inversamente proporcional a la temperatura; a mayor temperatura, menor será su duración. Sin embargo, si esta supera los 40 °C, se produce muerte celular debido a la desnaturalización de las proteínas. Asimismo, temperaturas muy bajas pueden inhibir la fermentación alcohólica, sin producir la muerte de las levaduras, debido al funcionamiento deficiente de la ATPasa como “bomba de protones”, que acidifica el citoplasma celular (Hidalgo Togores, 2010).

2.5.2 Rutas metabólicas del ácido málico durante fermentación alcohólica

La ramificación de las rutas metabólicas durante la fermentación alcohólica es compleja y da lugar a la formación de productos secundarios, en su mayoría ácidos orgánicos. Entre ellos, además del ácido pirúvico, el citrato, el malato, el fumarato y el succinato son los principales metabolitos del ciclo del ácido tricarboxílico (TCA) y del ciclo del glioxilato (Vion *et al.*, 2024). Estos compuestos no solo actúan como precursores en la biosíntesis de aminoácidos y alcoholes superiores, sino que también desempeñan un papel clave en las reacciones de oxidorreducción.

La actividad metabólica de los microorganismos durante las fermentaciones alcohólica y maloláctica modifica el equilibrio entre los ácidos orgánicos (Vion *et al.*, 2023). El ácido tartárico es el principal contribuyente a la acidez del vino e influye significativamente en su percepción organoléptica. Aunque no se metaboliza durante la vinificación, su concentración disminuye a través de mecanismos fisicoquímicos, como la acumulación de etanol o la neutralización por cationes (K^+ , Ca^{2+} , Na^+) (Scutarașu *et al.*, 2021).

Las cepas de *S. cerevisiae* no pueden degradar eficazmente el ácido málico durante la fermentación alcohólica, solo lo degradan parcialmente (10 a 25%) a través de la fermentación maloalcohólica, lo que contribuye a la reducción de la acidez (Vion *et al.*, 2023; Ribéreau-Gayon *et al.*, 2003a). Esta fermentación implica la asimilación del ácido málico como fuente de carbono por la enzima málica, que cataliza su descarboxilación a ácido

pirúvico en una reacción dependiente de NADH. Posteriormente, el ácido pirúvico se descarboxila, produciendo dióxido de carbono y etanal, que luego se oxida a etanol, en una reacción catalizada por la enzima alcohol deshidrogenasa (Hidalgo Togores, 2010). La enzima málica requiere cationes divalentes (Mn^{2+} o Mg^{2+}) como cofactores y su localización varía según la especie de levadura: en *Schizosaccharomyces pombe*, la reacción ocurre en el citosol y la enzima presenta un K_m bajo, lo que refleja una alta afinidad por el ácido málico; mientras que en *S. cerevisiae* se lleva a cabo en la mitocondria donde el K_m es más elevado y la reacción sólo es efectiva a altas concentraciones de ácido málico (Vion *et al.*, 2024).

El consumo activo de ácido málico aumentaría los niveles intracelulares de NADH, lo que implicaría un aumento en la producción de glicerol para regenerar el reservorio de NAD^+ (Peltier *et al.*, 2021). Durante la fermentación, el pH influye en la difusión y el metabolismo intracelular del ácido málico, cuyos pKa son 3,46 y 5,10. Dado que el pH del mosto varía entre 3 y 4, el ácido málico se encuentra principalmente en su forma no disociada y monoprotónada. Al ingresar a la célula, predomina su forma desprotonada debido al pH intracelular que oscila entre 5 y 6, el cual se mantiene gracias al bombeo activo de protones hacia el exterior (Vion *et al.*, 2023).

Recientemente, Peltier *et al.* (2021) identificaron variaciones genéticas naturales que pueden modificar el catabolismo de las fuentes de carbono durante la fermentación del vino. A través de una estrategia de mapeo de QLTs², descubrieron genes que influyen en la producción de glicerol y el porcentaje de ácido málico consumido (MAC%), abriendo nuevas vías para el control de la acidez utilizando la principal especie empleada en la fermentación alcohólica. Además, Vion *et al.* (2023) obtuvieron nuevas cepas mediante un programa de selección, capaces de producir hasta 3,2 g/L de ácido málico al final de la fermentación alcohólica, las cuales fueron enriquecidas con alelos acidificantes de varios QTLs. En una evaluación sensorial preliminar, los vinos obtenidos con cepas de producir ácido málico fueron claramente diferenciados, en concordancia con los análisis químicos, que mostraron diferencias significativas en acidez total, pH y contenido de ácido málico.

Vion *et al.* (2024) describieron cuatro rutas principales mediante las cuales el ácido L(-)-málico se produce a partir del piruvato (Figura 1):

- a. En presencia de oxígeno y con mitocondrias funcionales, el ácido málico se genera en la matriz mitocondrial a partir del fumarato, que a su vez es producido por el complejo succinato deshidrogenasa. Esta reacción es catalizada por la enzima fumarasa y forma

² Por sus siglas en inglés, *Quantitative Trait Loci*, son regiones del genoma que están asociadas con características genéticas vinculadas a rasgos fisiológicos de interés enológico.

parte de la rama oxidativa del ciclo del ácido tricarboxílico (TCA).

- b. Durante la fermentación alcohólica, el ciclo del TCA se divide en dos ramas (oxidativa y reductiva) a nivel del complejo succinato deshidrogenasa, debido a la ausencia de oxígeno como aceptor final de electrones. No obstante, los ácidos orgánicos C4 (malato, fumarato y succinato) se pueden producir en la mitocondria a partir del oxaloacetato mediante la rama reductiva del ciclo del TCA. Esta vía implica la reducción de oxaloacetato a malato por la isoforma mitocondrial de la enzima malato deshidrogenasa.
- c. La tercera vía corresponde a la producción ácidos orgánicos C4 en el citosol, siguiendo un camino paralelo a la rama reductiva del TCA. Dado que el oxaloacetato se genera exclusivamente por la actividad de la enzima piruvato carboxilasa citosólica, estos ácidos derivan de este en el caso que la glucosa sea la única fuente de carbono. La enzima malato deshidrogenasa citosólica cataliza su reducción directa a malato, sin necesidad de transporte mitocondrial. Esta reacción puede proporcionar una fuente alternativa para la regeneración de NAD^+ al inicio de la fermentación alcohólica, complementando la fermentación glicéropirúvica.
- d. La cuarta vía de producción de ácido málico implica la condensación de acetyl-CoA y glioxilato, catalizada por la enzima malato sintasa. Aunque el ciclo del glioxilato interviene en la utilización de fuentes lipídicas en los peroxisomas, esta enzima también se encuentra en el citoplasma en presencia de etanol y está sujeta a la represión catabólica por glucosa.

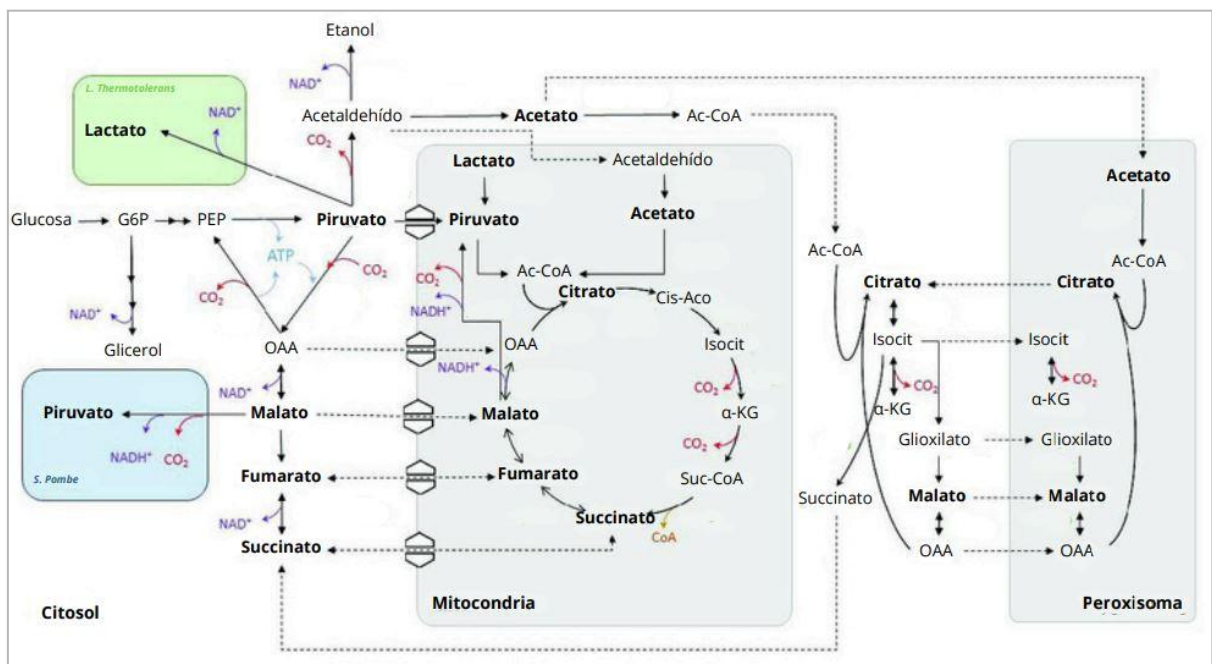


Figura 1. Metabolismo de los ácidos orgánicos de *S. cerevisiae* (Adaptado de Vion *et al.*, 2024).

3. METODOLOGÍA

3.1 Uvas para la elaboración

El ensayo se realizó a partir de uvas Malbec (*Vitis vinifera* L.) provenientes de viñedos comerciales ubicados en Las Compuertas, Luján de Cuyo, Mendoza, Argentina (33°02'40"S 68°56'34"O) (Figura 2). La fermentación fue llevada a cabo en la Bodega Alta Vista ubicada en Chacras de Coria, Luján de Cuyo, Mendoza, Argentina. Los racimos se cosecharon manualmente con un contenido de sólidos solubles de 24 °Brix y se seleccionaron eliminando hojas y aquellos que tuvieran signos de podredumbre.



Figura 2. Imagen satelital del viñedo ubicado en Las Compuertas (Luján de Cuyo, Mendoza, Argentina). El área delimitada en rojo corresponde a la totalidad del viñedo, mientras que la zona marcada en verde indica la parcela de Malbec seleccionada para el ensayo.

3.2 Microorganismos empleados

Se utilizaron dos cepas comerciales de *S. cerevisiae*, Zymaflore™ KLIMA (Laffort, Francia) y Zymaflore™ FX10 (Laffort, Francia). La cepa KLIMA promete reducir el grado alcohólico de los vinos hasta un 0,5% v/v y reforzar su acidez (Laffort, 2024). Por esta razón, fue considerada como la cepa bioacidificadora destinada a la conservación y producción de ácido málico durante la fermentación alcohólica, a través de sus diferentes vías metabólicas. La cepa FX10 es una levadura fructofílica con alta tolerancia al alcohol y resistente en un amplio rango de temperaturas por lo que ofrece una alta seguridad fermentativa (Laffort, 2024). Las fichas técnicas correspondientes a cada cepa se presentan en los Anexos A y B,

respectivamente.

3.3 Elaboración del vino

3.3.1 Diseño experimental

El experimento consistió en dos tratamientos de tres réplicas cada uno. El tratamiento A correspondió a la inoculación con la cepa Zymaflore™ KLIMA (Laffort, Francia), mientras que el tratamiento B correspondió a la inoculación con la cepa Zymaflore™ FX10 (Laffort, Francia). Cada réplica se llevó a cabo en un bin plástico con capacidad aproximada de 570 L.

3.3.2 Encubado

Los racimos se despalillaron, manteniendo los granos enteros, y se añadió bisulfito de amonio en solución acuosa (NH_4HSO_3) en una dosis de 6 g/100 kg de uva como antiséptico y antioxidante. La uva despalillada se colocó en 6 bins plásticos nuevos y limpios, llenándolos hasta dos tercios de su capacidad (400 L de mosto) para prevenir derrames, dado que durante la fermentación alcohólica el incremento de la temperatura y la liberación de anhídrido carbónico provocan un aumento del volumen de la vendimia (Hidalgo Togores, 2010). Los contenedores utilizados permitieron realizar las operaciones de vinificación de manera controlada y, al ser de forma cuadrada y poca altura, favorecieron el contacto de los sólidos con el mosto, optimizando los procesos de maceración.

Posteriormente, se realizó un análisis fisicoquímico del mosto previo a la inoculación de levaduras para cuantificar los valores de sólidos solubles, alcohol potencial, azúcar, pH, acidez total, anhídrido sulfuroso libre y nitrógeno fácilmente asimilable (NFA) (sección 3.4).

3.3.3 Preparación del inóculo de levaduras para la siembra

Las levaduras se rehidrataron utilizando una dosis de 20 g/hL en agua a 37-38 °C, en un volumen equivalente a 10 veces su peso, junto con Superstart® (Laffort, Francia) como preparador de levaduras que aporta factores de crecimiento y factores de supervivencia. La ficha técnica del producto se presenta en el Anexo C. Luego de 20 minutos, se agregó mosto de forma progresiva, para evitar el shock térmico, hasta que la diferencia de temperaturas entre el mosto y el preparado de levaduras fue menor a 10 °C. El tiempo de hidratación no superó los 45 minutos, y las levaduras se incorporaron inmediatamente después del encubado para minimizar el desarrollo de microorganismos indeseados.

3.3.4 Inicio de la fermentación alcohólica y seguimiento

Tras la adición de las levaduras, la temperatura y la densidad del mosto de cada bin se midieron dos veces al día, a intervalos de 12 horas entre cada registro. Antes de cada registro, se efectuaron bazuqueos para favorecer la extracción de compuestos polifenólicos y la

homogeneización de temperatura, concentración de azúcar y distribución de microorganismos. En el tercer día de fermentación, se adicionó Nutristart® (Laffort, Francia) en una dosis de 25 g/hL, con el objetivo de asegurar la finalización del proceso fermentativo. La ficha técnica del producto se presenta en el Anexo D.

Para las mediciones de densidad, se utilizaron tres densímetros (FITE, Argentina) con rangos de 0,900-1,000, 1,000-1,100 y 1,000-1,200 g/mL. La medición de la temperatura se realizó con un termómetro digital (FITE, Argentina), con rango de medición de -50 a 150 °C, para asegurar un rango óptimo de temperatura de fermentación.

Los datos de densidad del mosto en el tiempo durante el proceso de fermentación alcohólica permitieron graficar la cinética fermentativa. La velocidad fermentativa se calculó a intervalos diarios como el valor absoluto de la diferencia de azúcar consumida entre un día y el anterior. Los valores de azúcares se obtuvieron a partir de la densidad utilizando la tabla proporcionada en la resolución OIV-OENO 466-2012 de la Organización Internacional de la Viña y el Vino (OIV, 2012). La resolución completa se presenta en el Anexo E. La finalización de la fermentación se determinó en el punto de intersección entre la curva de densidad en función del tiempo con la densidad final (0,994 g/mL).

3.3.5 Finalización de la fermentación alcohólica

Al alcanzar una densidad inferior a 0,994 g/mL, el vino permaneció durante cinco días adicionales en los bins, en contacto con los sólidos y cubiertos por una capa de hielo seco para inertizar. El vino no fue sometido a fermentación maloláctica, por lo que se realizó el sulfitado con metabisulfito de potasio ($K_2S_2O_5$) para alcanzar un valor de 30 mg/L de SO_2 libre. Los análisis fisicoquímicos correspondientes se efectuaron inmediatamente después de esta etapa, incluyendo la cuantificación de azúcares reductores, alcohol etílico, pH, acidez total, acidez volátil (sección 3.5), complementados con un análisis del autoanalizador WineScan™ de FOSS.

3.4 Análisis fisicoquímico del mosto

Se utilizaron los métodos de análisis detallados en el *Manual de Técnicas Analíticas para mostos y vinos* del Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA), aprobados por el Instituto Nacional de Vitivinicultura (INV) (Nazralla *et al.*, 2009). Los análisis se realizaron en el laboratorio de la Bodega Alta Vista.

3.4.1 Sólidos solubles, alcohol potencial y azúcar

El contenido de sólidos solubles se determinó con el índice de refracción con un refractómetro de mano de 0 - 32 °Brix (Arcano Green), previo a la lectura del 0 con agua destilada.

El contenido de azúcar (g/L) y alcohol potencial (% v/v a 20 °C) se determinaron conforme a la tabla proporcionada en la resolución OIV-OENO 466-2012 (OIV, 2012). En esta tabla se establece la correspondencia entre el índice de refracción, el porcentaje de sacarosa (% m/m), el contenido en azúcares y el grado alcohólico volumétrico potencial para los mostos. Para su elaboración, se consideró la relación lineal que existe entre los valores de azúcar y el grado alcohólico volumétrico potencial (OIV, 2012) y los valores se calcularon con la siguiente fórmula:

$$\text{Contenido en azúcares (g/L)} \times 0,05943 = \text{Grado alcohólico volumétrico potencial (\% v/v a 20 °C)}$$

3.4.2 Acidez total y pH

Para determinar el pH, se utilizó el pHmetro MW150 (Milwaukee Electronics) calibrado con las soluciones buffer pH 4 y pH 7 correspondientes. Para determinar la acidez total, se realizó una titulación sobre 10 mL de muestra utilizando una solución de NaOH 0,05 N y azul de bromotimol como indicador, hasta observar el viraje de un color amarillo anaranjado en medio ácido a un color verde azulado en medio alcalino. Los valores de acidez total se calcularon con la siguiente fórmula:

$$\text{Acidez total (g ácido tartárico/L vino)} = n \times 0,375$$

donde n es el gasto (mL) de la solución de NaOH 0,05 N.

3.4.3 Anhídrido sulfuroso libre

El anhídrido sulfuroso libre se determinó mediante el método de Rippert (Nazrala *et al.*, 2009). Se midieron 50 mL de muestra con pipeta de doble aforo y se añadieron 5 mL de ácido sulfúrico 1:3 y 3 mL de engrudo de almidón al 2% como indicador. Finalmente, la muestra se tituló con una solución de yodo 0,02 N, empleando un haz de luz filtrada a través de una solución de cromato de potasio de color amarillo para observar el punto final. Los valores de anhídrido sulfuroso libre se calcularon con la siguiente fórmula:

$$\text{SO}_2 \text{ Libre (mg/L)} = G \times 12,8$$

donde G es el gasto (mL) de la solución de yodo 0,02 N.

3.4.4 Nitrógeno fácilmente asimilable

El nitrógeno fácilmente asimilable (NFA) se determinó con el método del Sørensen, adaptado de Zoecklein *et al.* (1999). Se colocaron 100 mL de muestra en un matraz aforado de 200 mL, ajustando el pH a 8 con una solución de hidróxido de sodio 1 N y luego con 0,1 N, utilizando un pHmetro. Luego de 15 minutos, se completó el volumen con agua destilada y se tomaron 100 mL, que fueron nuevamente corregidos a pH 8 con la solución de NaOH 0,1 N. A continuación, se añadió 25 mL de formaldehído al 40% (neutralizado a pH 8) y se tituló la muestra con la solución de NaOH 0,1 N hasta pH 8. El formaldehído, al entrar en contacto

con el NFA, reacciona con los grupos amina ($-\text{NH}_2$) de los aminoácidos y con los iones amonio (NH_4^+), bloqueando su disponibilidad. Esta reacción provoca la liberación de protones (H^+), lo que genera un descenso del pH en la solución, que posteriormente es titulada con la solución de NaOH (Constanza, 2021). Los valores de NFA se calcularon con la siguiente fórmula:

$$\text{NFA (mg/L)} = G \times 28$$

donde G es el gasto (mL) de la solución de hidróxido de sodio 0,1 N.

3.5 Análisis fisicoquímico del vino

3.5.1 Azúcares reductores

Los azúcares reductores se analizaron mediante el método del Licor de Fehling Causse-Bonnans (Nazralla *et al.*, 2009). Primero, para realizar la defecación de la muestra antes de la titulación, se colocaron 90 mL de vino en una probeta, junto con 10 mL de solución de acetato de plomo al 25% y 5 g de carbón activado, y se dejó reposar durante 10 minutos. Este proceso se realizó para eliminar otras sustancias que puedan reaccionar bajo las mismas condiciones que los azúcares, evitando resultados erróneos. Luego, se filtró la muestra con papel de filtro en un erlenmeyer de 250 mL.

Una vez obtenido el filtrado, se transfirió a una bureta acodada de 25 mL. En un erlenmeyer de 250 mL, se colocaron 15 mL de licor de Fehling, medidos con pipeta de doble aforo, junto con 50 mL de agua destilada. La titulación se realizó en caliente, una vez que inició la ebullición del licor de Fehling en el erlenmeyer. Cuando el líquido se aclaró de un azul al celeste claro, se detuvo el goteo y se agregaron 3 gotas de azul de metileno. Se continuó con la titulación hasta que apareció una mancha amarilla que luego se generalizó en toda la masa del líquido. Se registraron los mL gastados de la bureta una vez que se alcanzó el punto final. Los valores de azúcares reductores se calcularon con la siguiente fórmula:

$$\text{Azúcares reductores (g azúcar/L vino)} = 45,1 / n$$

donde n es el gasto (mL) del filtrado.

3.5.2 Alcohol etílico

Para cuantificar el alcohol etílico, se utilizó el método del alcoholómetro. Se enrasó un matraz aforado de 200 mL con la muestra y se transfirió a un balón de destilación. Luego, se neutralizaron el SO_2 y los ácidos volátiles utilizando una solución de NaOH concentrado (30 a 40%), hasta alcanzar un color verde sucio (en vinos tintos), y se añadieron 2 mL de antiespumante.

El balón se cerró con un tapón de goma unido a un refrigerante, y en la salida del mismo se

colocó el matraz aforado de 200 mL utilizado previamente para la muestra. Se llevó a cabo la destilación hasta obtener aproximadamente dos tercios del volumen inicial, enrasando posteriormente con agua destilada hasta completar nuevamente los 200 mL.

Una vez que el destilado se enfrió hasta alcanzar 20 °C, temperatura medida con un termómetro de vidrio calibrado de 0-100°C (FITE, Argentina), se transfirió a una probeta y se determinó el contenido alcohólico con un alcoholómetro 10/20 :0,1%, calibrado a 20 °C (FITE, Argentina). La lectura se realizó en la parte inferior del menisco y los resultados se expresaron como % v/v (volumen/volumen) a 20 °C.

Adicionalmente, la tasa de conversión de azúcares en etanol fue calculada a partir de la relación entre el azúcar fermentable y el porcentaje de etanol producido (Mestre Furlani *et al.*, 2017):

$$\text{Tasa de conversión de azúcares} = (\text{Az. inicial} - \text{Az. final}) / \text{Alcohol}$$

donde Az. inicial corresponde al contenido de azúcar del mosto (g/L), determinado según la sección 3.4.1.

Az. final corresponde al contenido de azúcar final (g/L). Se consideró igual a 0 a fines prácticos, según la tabla de la resolución OIV-OENO 466-2012 (OIV, 2012).

Alcohol corresponde al contenido de etanol (% v/v).

3.5.3 Acidez total y pH

Para la determinación de pH, se utilizó el pHmetro MW150 (Milwaukee Electronics) calibrado con las soluciones buffer pH 4 y pH 7 correspondientes. Para determinar la acidez total, se realizó una titulación sobre 10 mL de muestra utilizando una solución de NaOH 0,05 N y azul de bromotimol como indicador, hasta observar el viraje de un color amarillo anaranjado en medio ácido a un color verde azulado en medio alcalino. Los valores de acidez total se calcularon con la siguiente fórmula:

$$\text{Acidez total (g ácido tartárico/L vino)} = n \times 0,375$$

donde n es el gasto (mL) de la solución de NaOH 0,05 N.

3.5.4 Acidez volátil

Para determinar la acidez volátil, se utilizó el método de Jaulmes (Nazralla *et al.*, 2009). Se midieron 10 mL de vino con pipeta de doble aforo y se transfirieron a la ampolla del dispositivo de destilación junto con 1 mL de ácido tartárico al 25%, con el objeto de desplazar al ácido acético de sus sales, para que pueda ser destilado. El proceso de destilación se llevó a cabo hasta recolectar 100 mL del destilado en un erlenmeyer de 250 mL. Posteriormente, se realizaron tres titulaciones:

1. Primera titulación: se añadió fenolftaleína como indicador y se tituló con NaOH 0,1 N

hasta obtener un leve color rosado.

2. Segunda titulación: se acidificó la solución con una gota de ácido sulfúrico concentrado, se agregaron 3 mL de almidón como indicador y se tituló con yodo 0,02 N hasta alcanzar un color azul violáceo.
3. Tercera titulación: se agregaron 25 mL de bórax en solución saturada y se tituló nuevamente con yodo 0,02 N hasta recuperar el color azul violáceo.

Los valores de acidez volátil se calcularon con la siguiente fórmula:

$$\text{Acidez volátil (g ácido acético/L vino)} = 0,6 (a - (b/5 + c/10))$$

donde a es el gasto (mL) de la solución de NaOH 0,1 N.

b es el gasto (mL) de la solución de yodo 0,02 N.

c es el gasto (mL) de la solución de yodo 0,02 N luego de la solución de bórax.

3.5.5 Análisis de diferentes compuestos orgánicos de interés en el vino

Para la cuantificación de diferentes compuestos orgánicos de interés se utilizó el autoanalizador WineScan™ de FOSS bajo el principio FTIR. Este análisis se tercerizó en el laboratorio MAG SRL. Las pautas sobre espectroscopia infrarroja por transformación de Fourier (FTIR) se encuentran establecidas en la resolución OIV-OENO 390-2010 de la Organización Internacional de la Viña y el Vino (OIV, 2010). Esta técnica permite escanear la totalidad del espectro infrarrojo en una banda espectral de 2.000 a 10.000 nm, cubriendo tanto el infrarrojo cercano como el medio (OIV, 2010).

El equipo, ya calibrado previamente por el laboratorio externo, permitió cuantificar de manera simultánea diversos compuestos orgánicos (etanol, ácido málico, ácido láctico, ácido cítrico, glicerol, fructosa, glucosa, ácido glucónico, ácido tartárico y polifenoles totales mediante el índice de Folin-Ciocalteu), así como otros parámetros de interés enológico, como acidez total y volátil, pH, anhídrido carbónico y densidad.

3.6 Análisis estadístico de los datos

El análisis estadístico de los datos se realizó utilizando el software InfoStat (v2013). Las variables dependientes fueron la temperatura y la densidad del mosto a lo largo del tiempo, que permitieron definir la cinética fermentativa y la velocidad fermentativa por intervalos. Los datos fueron analizados estadísticamente mediante el análisis de varianza (ANOVA) paramétrico previo al análisis del cumplimiento de los supuestos de homogeneidad de varianzas (test de Levene), normalidad (test de Shapiro-Wilk) e independencia, seguido del post-test de Tukey. Cuando los supuestos no se cumplieron, se aplicó un análisis de varianza no paramétrico seguido del post-test de Kruskal-Wallis. Se consideró un valor de $p < 0,05$

como estadísticamente significativo.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Parámetros fisicoquímicos del mosto

Previo a la inoculación de las levaduras, se evaluaron los parámetros fisicoquímicos de los mostos correspondientes a ambos tratamientos (FX10 y KLIMA). Los resultados se presentan en la Tabla 1. No se observaron diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos para ninguno de los parámetros analizados (ANOVA, $p > 0,05$), lo que indica que las condiciones iniciales de fermentación fueron comparables en ambos casos.

Tabla 1. Parámetros fisicoquímicos de los mostos antes de la fermentación alcohólica.

<i>Parámetro</i>	<i>FX10</i>	<i>KLIMA</i>
Sólidos solubles (°Brix)	24,13 ± 0,15	24,17 ± 0,06
Alcohol potencial (% v/v)	14,22 ± 0,11	14,25 ± 0,04
Azúcar (g/L)	217,47 ± 1,48	217,77 ± 0,58
pH	3,65 ± 0,02	3,66 ± 0,01
Acidez Total (g/L)	4,83 ± 0,11	4,80 ± 0,04
SO ₂ Libre (mg/L)	4,67 ± 1,15	5,33 ± 0,58
NFA (mg/L)	224,00 ± 3,00	222,00 ± 1,73

4.2. Cinética fermentativa y temperatura

Con el objetivo de mejorar la comprensión de la cinética de fermentación de las cepas de levaduras estudiadas, FX10 y KLIMA, se evaluó la cinética fermentativa a través de la evolución de la densidad a lo largo del tiempo. Se observaron diferencias significativas entre las cepas en varios puntos del proceso fermentativo.

En la Figura 3, se observa que hubo diferencias estadísticamente significativas entre las densidades de las cepas FX10 y KLIMA a partir del día 2, siendo FX10 la que mostró valores de densidad inferiores en cada día evaluado. En el tratamiento con la cepa FX10, se observó una disminución significativa de la densidad el día 4 en comparación con el día previo (ANOVA, $p < 0,05$, Tukey). En el tratamiento con KLIMA, este descenso pronunciado ocurrió en el día 5 en comparación con el día previo (ANOVA, $p < 0,05$, Tukey). En ambos casos, este comportamiento podría atribuirse a la adición de nutrientes realizada en el tercer día (25 g/hL de Nutristart®), para favorecer el crecimiento de las levaduras y la correcta finalización de la fermentación. Las diferencias entre ambos tratamientos se mantuvieron hasta el día 6. La fermentación alcohólica finalizó en el día 7 para la cepa FX10, mientras que en KLIMA concluyó en el día 9, lo que evidencia una cinética fermentativa más lenta.

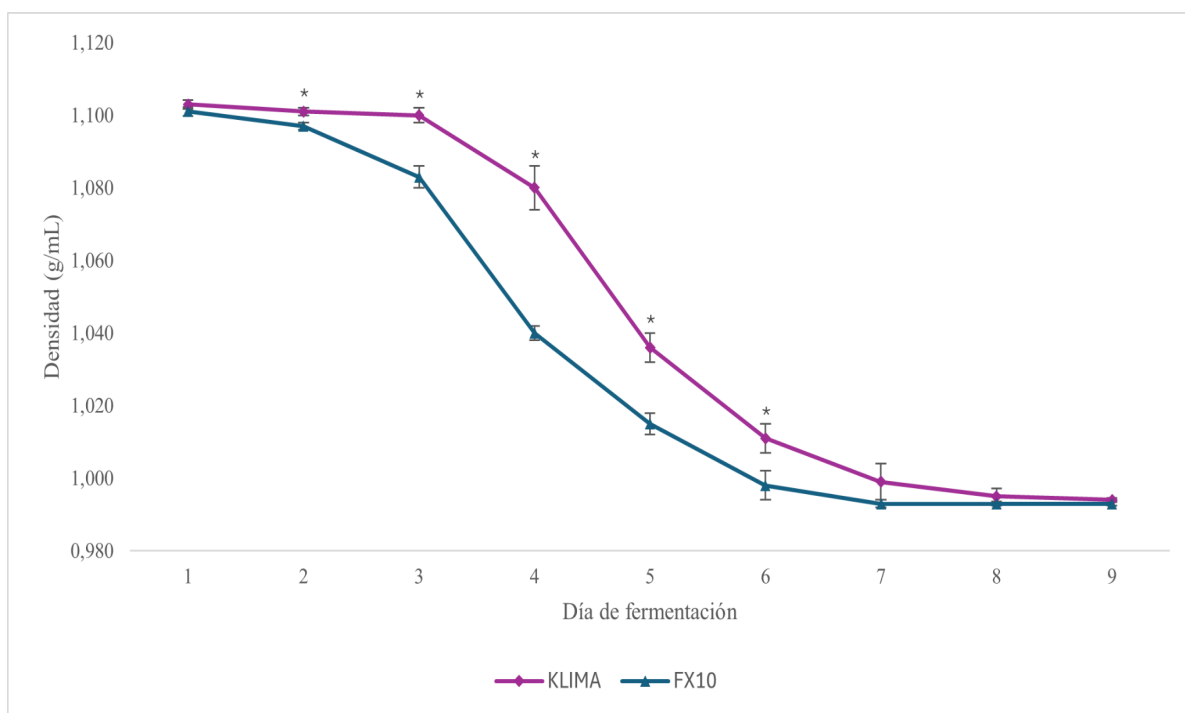


Figura 3. Evolución de la densidad promedio (g/mL) durante la fermentación alcohólica (días) de las cepas KLIMA y FX10. Las barras corresponden a la desviación estándar, se indican con * los días donde existe una diferencia significativa según ANOVA ($p < 0,05$).

La evolución de la densidad permitió calcular la velocidad fermentativa por intervalos para cada cepa (Figura 4). La tabla utilizada, incluida en el Anexo E, presenta ciertas limitaciones ya que la densidad de inicio es de 1,039 g/mL. Por este motivo, la velocidad fermentativa por intervalos se calculó únicamente para los días en los que las densidades superaron dicho valor. La cepa FX10 presentó una fase inicial de adaptación al medio durante los días 1-2, en la que la velocidad fermentativa fue baja ($10,83 \pm 4,07$ g/L/día). Entre los días 3-4 se alcanzó la máxima velocidad fermentativa ($109,93 \pm 5,78$ g/L/día), seguida de una disminución progresiva hasta la finalización de la fermentación. Por el contrario, KLIMA mostró una cinética más lenta, con velocidades mínimas en los días 1-2 y 2-3 ($5,07 \pm 5,26$ y $2,70 \pm 2,92$ g/L/día, respectivamente) lo que podría indicar una fase de latencia más prolongada. La etapa de máxima velocidad fermentativa, que ocurrió entre los días 4-5 ($105,67 \pm 12,56$ g/L/día), se alcanzó un día más tarde en comparación con FX10.

El análisis estadístico no reflejó diferencias significativas entre las velocidades máximas alcanzadas por cada uno de los tratamientos (ANOVA, $p > 0,05$), si bien fueron alcanzadas en días distintos, lo que sugiere que ambas cepas poseen una capacidad comparable para alcanzar velocidades máximas de fermentación.

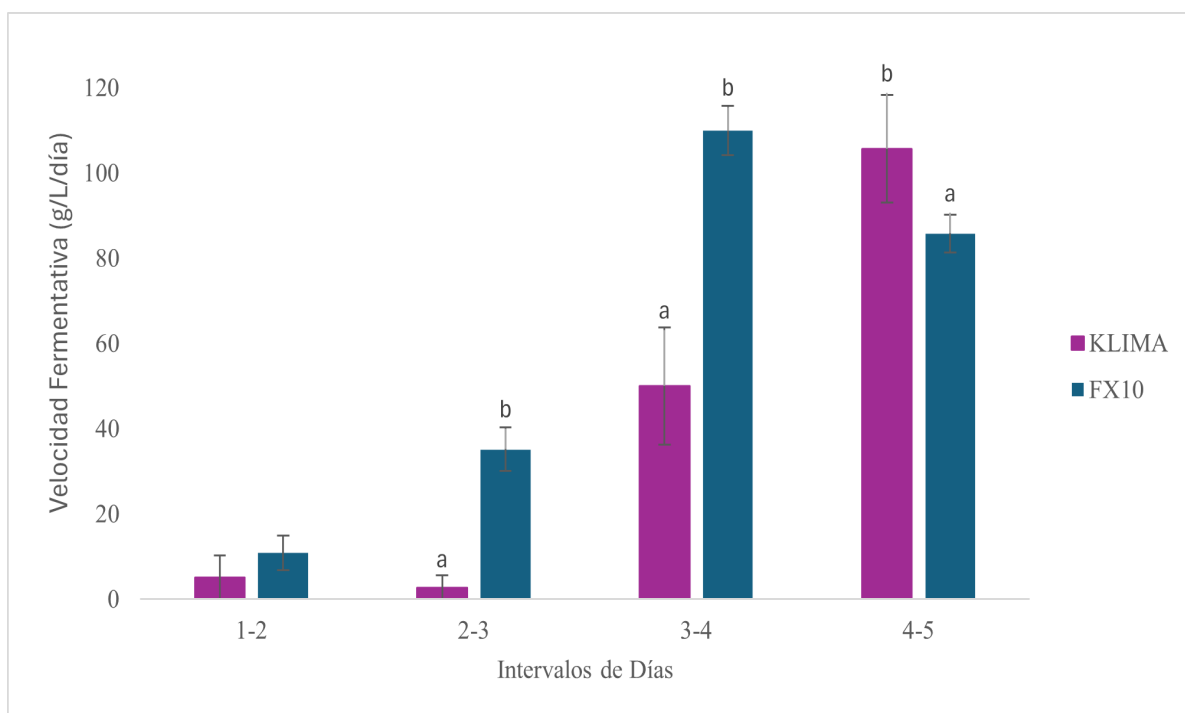


Figura 4. Velocidad fermentativa por intervalos diarios de las cepas KLIMA y FX10, expresada como la reducción de la concentración de azúcar promedio (g/L) por día. Las barras corresponden a la desviación estándar. Letras distintas (a, b) indican diferencias significativas (ANOVA, $p < 0,05$, Tukey).

El proceso de fermentación del vino fue monitoreado hasta que se constató su finalización al alcanzar densidades menores a 0,994 g/mL. La duración total de la fermentación mostró diferencias entre las cepas, con KLIMA finalizando en 9 días y FX10 en 7 días, aunque ambas completaron el proceso exitosamente.

Las diferencias observadas en la duración y la cinética de la fermentación reflejan tanto la capacidad de adaptación y multiplicación de cada cepa como las particularidades de su metabolismo. La cepa FX10 presentó una fermentación más rápida y homogénea, mientras que KLIMA mostró una cinética más lenta, con un retraso en la fase exponencial y una etapa de desaceleración más prolongada antes de completar la fermentación alcohólica. Estas variaciones podrían atribuirse a su actividad metabólica: FX10 dirige su metabolismo principalmente hacia la conversión de azúcares en etanol, mientras que KLIMA redirige parte de los intermediarios del metabolismo hacia la síntesis de ácido málico, favoreciendo la bioacidificación del medio.

Por otra parte, en la figura 5 se observa que FX10 mostró un incremento progresivo de la temperatura a lo largo del proceso, alcanzando su máximo en el día 4 ($26,37^{\circ}\text{C} \pm 0,40$). Este comportamiento contrasta con KLIMA, que inicialmente mantuvo temperaturas más

moderadas, pero alcanzó un pico térmico superior en el día 5 ($29,23\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 0,32$), coincidiendo con una intensa actividad fermentativa que provocó una marcada disminución en la densidad. En el día 5 se aplicó hielo seco (solo para el tratamiento KLIMA) para prevenir un aumento excesivo de la temperatura, aunque ésta se mantenía dentro del rango recomendado para la fermentación de vinos tintos (Hidalgo Togores, 2010).

Para ambas cepas, se encontró una correlación positiva entre la temperatura promedio y la velocidad fermentativa (KLIMA, $r = 0,52$, $p = 0,0091$; FX10, $r = 0,56$, $p = 0,0040$), lo que indica que un aumento en la velocidad fermentativa generaría un incremento en la temperatura. Este resultado es coherente, dado que una mayor velocidad fermentativa implica una mayor actividad metabólica de las levaduras y, al tratarse de reacciones exotérmicas, la liberación de calor explica el incremento de la temperatura observado.

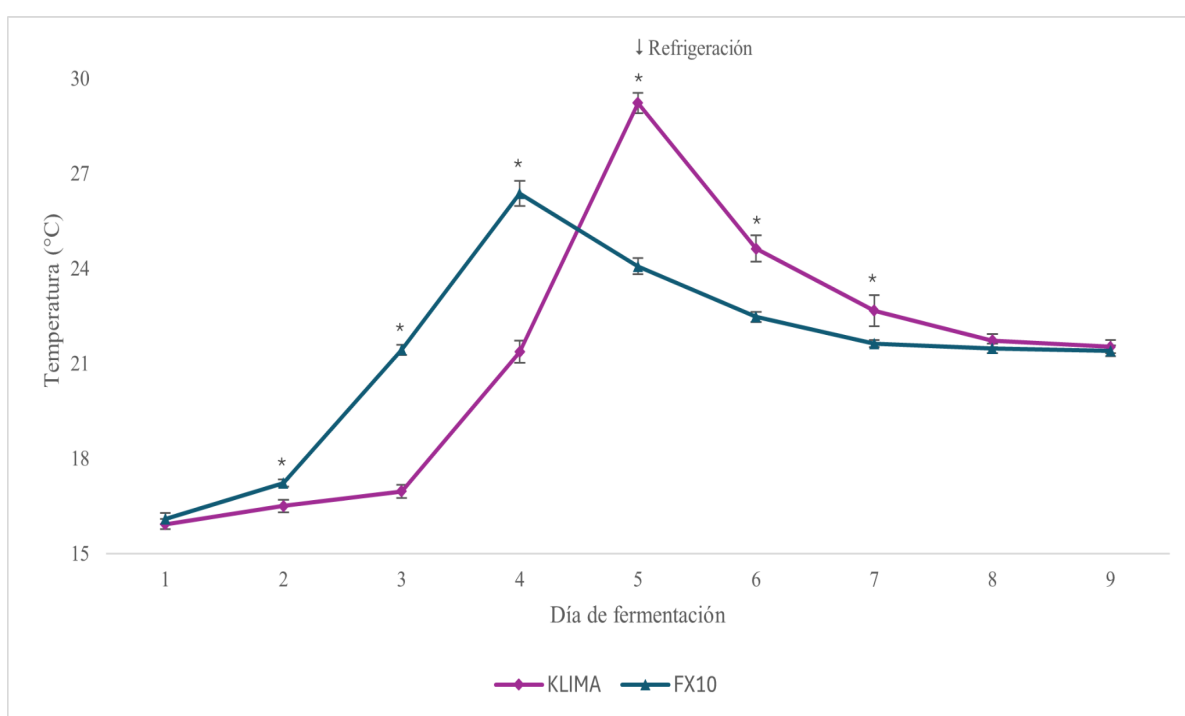


Figura 5. Evolución de la temperatura promedio ($^{\circ}\text{C}$) durante la fermentación alcohólica (días) de las cepas KLIMA y FX10. Las barras corresponden a la desviación estándar, se indican con * los días donde existe una diferencia significativa según ANOVA ($p < 0,05$).

Además, el aumento de temperatura en KLIMA podría influir sobre la extracción de compuestos fenólicos en el vino, ya que vinos elaborados a $29\text{ }^{\circ}\text{C}$ presentaron valores más altos del índice de polifenoles totales (IPT) desde el primer día de maceración en comparación con los elaborados a $24\text{ }^{\circ}\text{C}$ (Ferrero *et al.*, 2025). Venanzi (2014) demostró que la temperatura afecta significativamente esta extracción, al favorecer el ablandamiento de los tejidos vegetales y comprometer la integridad de la pared celular, lo que facilita la liberación de polifenoles. La temperatura de fermentación también influye en la composición aromática: a

temperaturas más bajas (15 °C) predominan aromas frutales y frescos, mientras que a 28 °C se observa una mayor concentración de compuestos asociados a aromas florales (Molina *et al.*, 2008). En la etapa final de fermentación (días 8 y 9), las temperaturas en ambos tratamientos se estabilizaron en valores cercanos a 21–22 °C, sin diferencias estadísticamente significativas (ANOVA, $p > 0,05$), reflejando la disminución de la actividad metabólica de las levaduras.

4.3. Parámetros fisicoquímicos del vino terminado

4.3.1 Producción de etanol

La producción de etanol se evaluó al finalizar la fermentación alcohólica en los tratamientos correspondientes a las cepas KLIMA y FX10. Los resultados muestran que el contenido medio de etanol fue mayor en el tratamiento FX10, con un promedio de $14,3 \pm 0,1$ % v/v; mientras que el tratamiento KLIMA alcanzó un promedio de $13,87 \pm 0,06$ % v/v (ANOVA, $p < 0,05$, Tukey) (Figura 6). Este resultado es consistente con la caracterización de la cepa FX10 como levadura de alto rendimiento alcohólico, mientras que la cepa KLIMA presentó una producción inferior relacionada con su capacidad de desviar parte de los azúcares hacia la síntesis de metabolitos distintos al etanol.

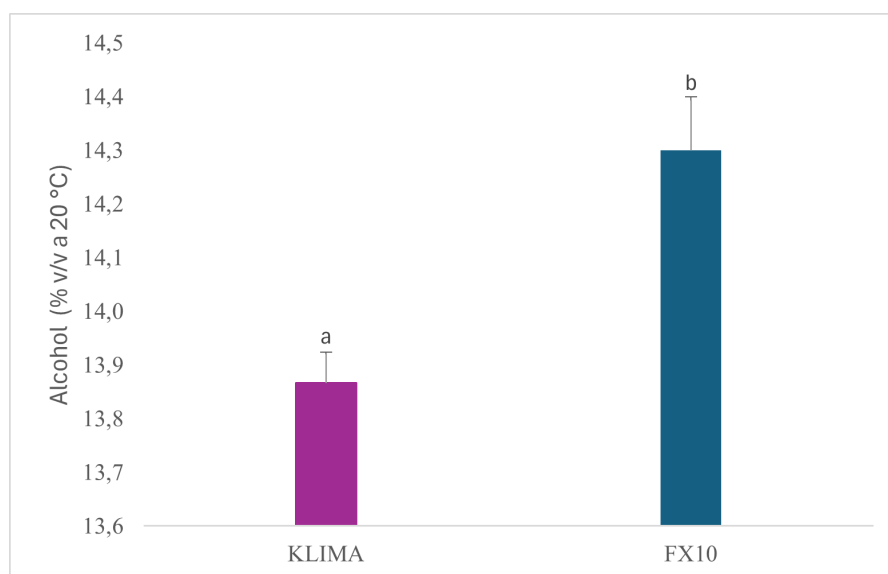


Figura 6. Producción de etanol promedio para las cepas KLIMA y FX10, expresada como porcentaje en volumen sobre volumen (% v/v a 20 °C). Las barras corresponden a la desviación estándar. Letras distintas (a, b) indican diferencias significativas (ANOVA, $p < 0,05$, Tukey).

4.3.2 Alcohol potencial y tasa de conversión de azúcares en etanol

Respecto al alcohol potencial, estimado a partir de la tabla presentada en el Anexo E, para FX10 se obtuvo un valor de $14,22 \pm 0,11$ % v/v, que no difirió significativamente del alcohol

realmente obtenido ($14,3 \pm 0,1$ % v/v) (ANOVA, $p > 0,05$). Por el contrario, el alcohol potencial calculado para KLIMA ($14,25 \pm 0,04$ % v/v) resultó significativamente mayor que el alcohol realmente obtenido ($13,87 \pm 0,06$ % v/v) (ANOVA, $p < 0,05$, Tukey). Esto se debe a las rutas metabólicas alternativas de KLIMA que reducen la eficiencia de conversión en alcohol. Por lo tanto, la estimación del alcohol potencial antes de la fermentación alcohólica resulta más compleja al utilizar KLIMA, ya que las tablas y factores de corrección suelen basarse en cepas con alta eficiencia en la producción de etanol. Al finalizar la fermentación, la concentración de azúcares reductores fue mínima ($1,80 \pm 0$ g/L) para ambas cepas, lo que confirma que el proceso se completó y el vino se consideró seco.

En relación a la tasa de conversión de azúcares en etanol, las cepas evaluadas presentan tasas más bajas en comparación con valores teóricos, que se sitúan entre 16 a 17 g/L por cada 1% v/v de etanol producido dependiendo de las condiciones del medio y del tipo de levadura (Hidalgo Togores, 2010). Los valores promedio se situaron en $15,70$ g/L % v/v $\pm 0,02$ para KLIMA y $15,21$ g/L % v/v $\pm 0,02$ para FX10, mostrando diferencias significativas entre cepas (ANOVA, $p < 0,05$, Tukey) (Figura 7). Resultados similares fueron reportados por Mestre Furlani *et al.* (2017), quienes observaron en *S. cerevisiae* BSc114 una tasa de conversión de $16,04$ g/L % v/v, valor próximo al teórico y consistente con lo esperado para estas cepas.

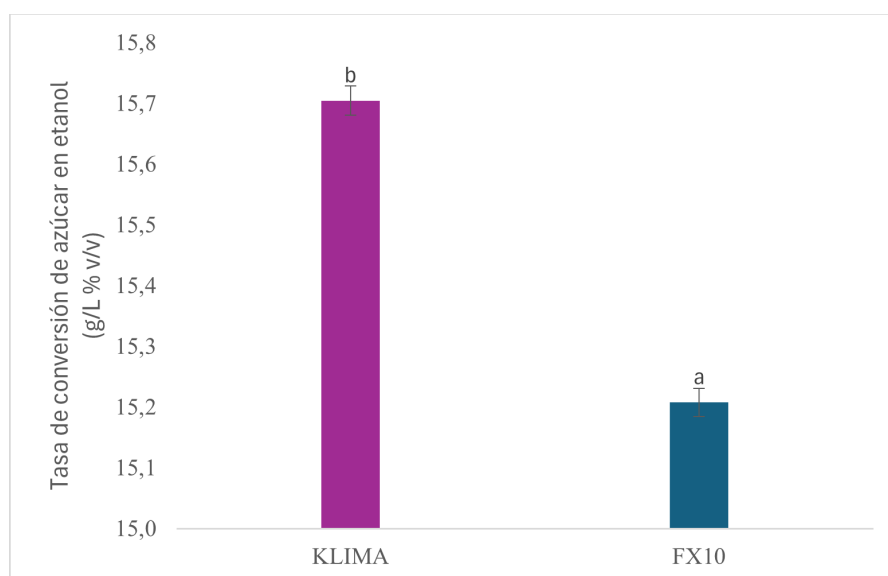


Figura 7. Tasa de conversión de azúcares en etanol promedio para las cepas KLIMA y FX10, expresada como gramos de azúcar por cada 1% v/v de etanol a 20 °C. Las barras corresponden a la desviación estándar. Letras distintas (a, b) indican diferencias significativas (ANOVA, $p < 0,05$, Tukey).

Estos resultados indican que la cepa KLIMA presentó una tasa de conversión de azúcares en etanol superior al de FX10, lo cual indica que consume más azúcar por unidad de alcohol

producido e implica diferencias en la eficiencia relativa de conversión de azúcares en etanol entre las cepas estudiadas. Este comportamiento era esperable, dado que KLIMA se caracteriza por desviar parte del azúcar hacia otras rutas metabólicas y su capacidad para preservar la acidez, lo que reduce su eficiencia en la producción exclusiva de etanol. Esta característica resulta beneficiosa para su aplicación en mostos con elevada concentración de azúcar, ya que permite obtener vinos con menor graduación alcohólica y mayor frescura.

4.3.3 Acidez total, acidez volátil y pH

Al finalizar la fermentación alcohólica, se evaluaron los parámetros asociados a la acidez con el objetivo de caracterizar los tratamientos. Los resultados se presentan en la Tabla 2.

La cepa KLIMA presentó una acidez total de $7,78 \pm 0,03$ g/L, significativamente superior a la observada en FX10 ($6,62 \pm 0,02$ g/L) (ANOVA, $p < 0,05$, Tukey). Este resultado confirma que KLIMA permite conservar e incluso aumentar la acidez durante la fermentación alcohólica, promoviendo una mayor acidificación del medio en comparación con FX10.

Tabla 2. Parámetros de acidez de las cepas FX10 y KLIMA al finalizar la fermentación alcohólica y su comparación entre tratamientos.

<i>Parámetro</i>	<i>FX10</i>	<i>KLIMA</i>	<i>p-valor*</i>
Acidez Total (g/L de ácido tartárico)	$6,62 \pm 0,02$	$7,78 \pm 0,03$	<0,0001
Acidez Volátil (g/L de ácido acético)	$0,63 \pm 0,03$	$0,50 \pm 0,01$	0,0015
pH	$3,82 \pm 0,01$	$3,77 \pm 0,02$	0,0101

* *p-valor* corresponde a ANOVA.

Respecto a la acidez volátil, FX10 presentó un valor promedio de $0,63 \pm 0,03$ g/L, significativamente superior al registrado para KLIMA ($0,50 \pm 0,01$ g/L) (ANOVA, $p < 0,05$, Tukey). La acidez volátil puede generarse como subproducto de la fermentación alcohólica de *S. cerevisiae*, también es un producto del metabolismo de bacterias acéticas y lácticas (Vilela *et al.*, 2010). Si bien ambas cepas produjeron niveles aceptables de acidez volátil, este parámetro está directamente asociado a la calidad de los vinos, dado que concentraciones elevadas repercuten de manera negativa en la misma (Ribéreau-Gayon *et al.*, 2003b). La menor producción registrada para la cepa KLIMA constituye una ventaja tanto sensorial como enológica. En cuanto al pH, los valores también difirieron significativamente entre tratamientos (ANOVA, $p < 0,05$, Tukey), siendo el vino fermentado con la cepa KLIMA ($3,77 \pm 0,02$) ligeramente más ácido que el fermentado con FX10 ($3,82 \pm 0,01$). Esta disminución

del pH es coherente con la mayor acidez total observada en KLIMA respecto a FX10, lo que confirma su capacidad para conservar o incluso aumentar la acidez durante la fermentación alcohólica. Como consecuencia, la acidificación del medio contribuye favorablemente a la estabilidad microbiológica, a la eficacia del uso de anhídrido sulfuroso y a la percepción de frescura del vino.

4.3.4 Producción de ácido málico y otros metabolitos

Luego de la fermentación alcohólica, se realizó un análisis fisicoquímico complementario de los vinos elaborados con las cepas FX10 y KLIMA con el autoanalizador WineScan™ de FOSS bajo el principio FTIR. Para este análisis, se trabajó con una muestra por tratamiento obtenida de la homogeneización de las tres réplicas, por lo que no fue posible realizar un análisis estadístico. Los resultados se presentan en la Tabla 3.

Tabla 3. Resultados del análisis fisicoquímico complementario con autoanalizador de las cepas FX10 y KLIMA.

<i>Parámetro</i>	<i>FX10</i>	<i>KLIMA</i>
Alcohol (% v/v)	14,32	14,05
Acidez total (g/L)	5,59	6,67
Acidez volátil (g/L)	0,29	0,11
Ácido málico (g/L)	2,81	2,57
pH	3,89	3,78
Ácido láctico (g/L)	0,03	0,52
Fructosa (g/L)	1,78	1,53
Glucosa (g/L)	0,64	0,17
Ácido cítrico (g/L)	0,63	0,65
Anhídrido carbónico (mg/L)	797,84	778,91
Densidad (g/mL)	0,994	0,996
Índice Folin-Ciocalteu	42,92	45,93
Ácido glucónico (g/L)	0,00	0,00
Glicerol (g/L)	9,31	13,18
Ácido tartárico (g/L)	1,52	1,49
Fructosa + Glucosa (g/L)	2,42	1,70

Se cuantificó el contenido de ácido málico, obteniéndose valores de 2,81 g/L para FX10 y 2,57 g/L para KLIMA. Aunque ambos tratamientos presentaron concentraciones similares, se esperaba un contenido más elevado para KLIMA debido a su capacidad de biosíntesis de

ácido málico a partir de rutas metabólicas secundarias. La menor concentración observada podría explicarse, al menos en parte, por la temperatura máxima alcanzada por KLIMA durante la fermentación: en el día 5 se registraron temperaturas elevadas ($29,23\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 0,32$), las cuales, según Su *et al.* (2014), podrían favorecer la degradación del ácido málico por cepas termotolerantes como *S. cerevisiae*. En este contexto, es relevante señalar que KLIMA fue el único tratamiento en el que se aplicó refrigeración y refleja la importancia de controlar la temperatura para no comprometer el potencial de bioacidificación.

Estudios previos han demostrado que ciertas cepas seleccionadas de *S. cerevisiae* pueden producir hasta 3 g/L de ácido málico y reducir el pH del vino hasta en 0,5 unidades en comparación con cepas consumidoras de este ácido (Vion *et al.*, 2023). En la misma línea, Yeramian *et al.* (2007) aislaron cepas de *S. cerevisiae* y encontraron que solo 10 de un total de 282 fueron capaces de producir ácido L(-)-málico en concentraciones de entre 0,5 y 1 g/L durante la fermentación alcohólica. Según estos autores, las levaduras sintetizan ácido málico L(-) a través de la vía del fumarato, catalizada por la enzima fumarasa citosólica o mitocondrial, o a través del ácido oxalacético, catalizada por la enzima malato deshidrogenasa. Además, se observó que la producción de ácido málico se vio favorecida por temperaturas entre 18 y 25 °C, así como por mostos con pH elevado y bajas concentraciones de azúcar, ácido málico inicial y nitrógeno fácilmente asimilable (Yeramian *et al.*, 2007).

El tratamiento con KLIMA presentó una concentración más elevada de ácido láctico (0,52 g/L) en comparación con FX10 (0,03 g/L). Este resultado es coherente con la mayor acidez total observada en KLIMA respecto a FX10. La mayor concentración de ácido láctico podría estar asociada al metabolismo de la levadura o a una fermentación maloláctica parcial realizada por bacterias lácticas en paralelo a la fermentación alcohólica. La primera posibilidad resulta poco probable, ya que *S. cerevisiae* solo produce trazas de ácido láctico durante la fermentación debido a la ineficiencia de las enzimas lactato deshidrogenasas en las mitocondrias (Vicente *et al.*, 2022). La segunda posibilidad resulta más probable, ya que también explicaría la menor concentración de ácido málico en KLIMA, al haber sido parcialmente metabolizado por bacterias lácticas. Es posible que estas bacterias, presentes en la vendimia y capaces de alcanzar poblaciones de 10^2 células/mL durante la fermentación alcohólica (Hidalgo Togores, 2010), se hubieran desarrollado antes de que finalizara la fermentación y comenzado a degradar el ácido málico, previo al sulfitado e inertización final. Finot (2018) obtuvo resultados similares, observando que los vinos elaborados con levaduras bioacidificadoras presentaron mayor acidez total y niveles más altos de ácido láctico al final de la fermentación en comparación a levaduras convencionales.

La concentración de glicerol, compuesto de sabor dulce que suaviza la astringencia, fue mayor en KLIMA (13,18 g/L) frente a FX10 (9,31 g/L). Estos resultados coinciden con los reportados por Pascual *et al.* (2017), quienes observaron que los vinos fermentados con una cepa bioacidificadora presentaban un menor contenido de alcohol y una mayor concentración de glicerol, concluyendo que la levadura redirige parte del flujo metabólico de los azúcares hacia la producción de glicerol.

Los resultados obtenidos en el presente estudio sugieren que el impacto de KLIMA sobre la acidez del vino no se limita exclusivamente a la acumulación de ácido málico. Por el contrario, su contribución parece responder a un equilibrio más complejo de ácidos orgánicos, lo cual debe ser considerado al evaluar su utilidad tecnológica en mostos con baja acidez inicial.

Con respecto al alcohol, los vinos alcanzaron valores de 14,32% v/v para FX10 y 14,05% v/v para KLIMA. Comparado con los resultados reportados en la sección 4.3.1, se mantuvo la misma tendencia, con FX10 registrando valores superiores a KLIMA, lo que refuerza la premisa que la cepa bioacidificadora es capaz de producir menor cantidad de alcohol. No obstante, se observaron ligeras diferencias en los resultados, atribuidas a las limitaciones propias de cada metodología analítica, ya que ninguna técnica puede considerarse más exacta que la otra. Los métodos espectroscópicos, aunque son rápidos y fáciles de ejecutar, requieren de un proceso de calibración frente a los métodos oficiales para garantizar la fiabilidad de los resultados (Dini *et al.*, 2021). Por otra parte, las técnicas convencionales de laboratorio presentan limitaciones relacionadas con la cantidad de muestra requerida, la precisión analítica del personal y el tiempo necesario para completar el análisis (Dini *et al.*, 2021).

En cuanto a los azúcares reductores (expresados como fructosa + glucosa), se observaron valores bajos, con 2,42 g/L en FX10 y 1,70 g/L en KLIMA. Si bien hubo diferencias en FX10, los resultados confirman que la fermentación alcohólica fue completa, obteniéndose vinos secos (< 4 g/L) (Instituto Nacional de Vitivinicultura, 2012).

La acidez total fue mayor en el vino fermentado con KLIMA (6,67 g/L expresados como ácido tartárico) en comparación con FX10 (5,59 g/L). Esta diferencia era esperable, dado que KLIMA tiene la capacidad de preservar la acidez durante la fermentación, manteniendo la misma tendencia descrita en la sección 4.3.3. No obstante, en ambas cepas los valores fueron aproximadamente 1 g/L inferiores a los obtenidos en el laboratorio, lo que se atribuye a las diferencias entre las técnicas previamente mencionadas. La acidez volátil se mantuvo baja en ambos tratamientos y dentro de niveles aceptables, con valores de 0,29 g/L de ácido acético en FX10 y 0,11 g/L en KLIMA. Las diferencias respecto a los resultados de laboratorio probablemente se deban al mismo factor mencionado anteriormente. Asimismo, se confirma

la tendencia de KLIMA como cepa asociada a una menor producción de acidez volátil, lo que constituye una ventaja tanto desde el punto de vista sensorial como enológico. El pH acompañó la tendencia observada en la acidez total: el vino fermentado con KLIMA presentó un valor ligeramente menor (3,78) en comparación con FX10 (3,89). Estas diferencias fueron mínimas y consistentes con los resultados obtenidos en el laboratorio.

4.4. Limitaciones del estudio

El ensayo se llevó a cabo utilizando una única variedad de uva y no incluyó análisis sensorial de los vinos terminados. Sería beneficioso evaluar la influencia de la cepa KLIMA en distintas variedades, complementado con un análisis sensorial, con el fin de determinar si los efectos beneficiosos observados en este estudio se mantienen en diferentes contextos.

Asimismo, sería interesante analizar sensorial y físicoquímicamente la influencia de KLIMA en los vinos luego de ser sometidos a fermentación maloláctica y crianza en barrica, con el objetivo de estudiar la evolución del vino a lo largo del tiempo.

Otra limitación del estudio fue la ausencia de análisis por triplicado en los ensayos realizados mediante autoanalizador, lo cual habría permitido un análisis estadístico de los datos y conclusiones robustas. Además, la falta de una tabla completa que incluya densidades menores a 1,039 g/mL junto con su correspondiente concentración de azúcares (g/L) impidió evaluar con detalle la velocidad fermentativa en las etapas finales de la fermentación alcohólica.

5. CONCLUSIONES

- Si bien la cepa KLIMA presentó una cinética más lenta comparada con FX10, con una mayor fase de latencia y una etapa de desaceleración más prolongada, estas diferencias no afectaron su capacidad para completar la fermentación en 9 días, frente a los 7 días de FX10.
- Se encontró una correlación positiva entre la temperatura promedio y la velocidad fermentativa para ambos tratamientos. En particular, el control de la temperatura en KLIMA durante la fermentación resulta clave para preservar el potencial bioacidificadora.
- El tratamiento con KLIMA logró un menor grado alcohólico ($13,87 \pm 0,06$ % v/v) en comparación con FX10 ($14,3 \pm 0,1$ % v/v), lo que confirma su potencial para elaborar vinos con menor graduación alcohólica.
- El tratamiento con KLIMA mostró una acidez total mayor ($7,78 \pm 0,03$ g/L) y un pH más bajo ($3,77 \pm 0,02$) en comparación con FX10 ($6,62 \pm 0,02$ g/L y $3,82 \pm 0,01$, respectivamente), lo que confirma su capacidad de preservar e incrementar la acidez durante la fermentación alcohólica.
- Asimismo, KLIMA presentó valores más bajos de acidez volátil comparada con FX10 ($0,50 \pm 0,01$ g/L y $0,63 \pm 0,03$ g/L, respectivamente), lo que supone una ventaja adicional, dado el efecto negativo de este parámetro sobre la calidad del vino.
- Tanto KLIMA como FX10 presentaron concentraciones similares de ácido málico (2,57 g/L y 2,81 g/L, respectivamente). No obstante, los vinos elaborados con KLIMA mostraron una mayor concentración de ácido láctico (0,52 g/L) y glicerol (13,18 g/L), compuestos que contribuyen a una mayor calidad sensorial del vino.

BIBLIOGRAFÍA

- Abalos, D., Vejarano Mantilla, R. D., Morata, A., Gonzalez, C., & Suárez-Lepe, J. (2011). The use of furfural as a metabolic inhibitor for reducing the alcohol content of model wines. *European Food Research and Technology*, 232(4), 663–669.
- Afonso, S. M., Inês, A., & Vilela, A. (2024). Bio-dealcoholization of wines: Can yeast make lighter wines? *Fermentation*, 10(1), 36.
- Aguera, E., Bes, M., Roy, A., Camarasa, C., & Sablayrolles, J. M. (2010). Partial removal of ethanol during fermentation to obtain reduced-alcohol wines. *American Journal of Enology and Viticulture*, 61(1), 53–60.
- Alston, J. M., Fuller, K. B., Lapsley, J. T., Soleas, G., & Tumber, K. P. (2015). Splendide mendax: False label claims about high and rising alcohol content of wine. *Journal of Wine Economics*, 10(3), 275–313.
- Balint, G., & Reynolds, A. (2014). Effect of different irrigation strategies on vine physiology, yield, grape composition and sensory profiles of *Vitis vinifera* L. Cabernet Sauvignon in a cool climate area. *Journal International des Sciences de la Vigne et du Vin*, 48(4), 269–292.
- Biyela, B. N. E., du Toit, W., Divol, B., Malherbe, D., & Rensburg, P. (2009). The production of reduced-alcohol wines using Gluzyme Mono® 10.000 BG-treated grape juice. *South African Journal of Enology and Viticulture*, 30(2), 124–132.
- Böttcher, C., Harvey, K., Forde, C. G., Boss, P. K., & Davies, C. (2011). Auxin treatment of pre-veraison grape (*Vitis vinifera* L.) berries both delays ripening and increases the synchronicity of sugar accumulation. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 17(1), 1–8.
- Bucher, T., Deroover, K., & Stockley, C. (2018). Low-alcohol wine: A narrative review on consumer perception and behaviour. *Beverages*, Volumen 4(4), 82.
- Catelén, M. J. (2022). *Combinación de estrategias pre-fermentativas y fermentativas para reducir el contenido de alcohol y el pH en vinos Malbec*. Universidad Nacional de Cuyo, Facultad de Ciencias Agrarias.

Ciani, M., Canonico, L., Oro, L., & Comitini, F. (2014). Sequential fermentation using non-*Saccharomyces* yeasts for the reduction of alcohol content in wine. *BIO Web of Conferences*, 3, 02015.

Constanza, L. N. J. (2021). *Métodos de ensayo utilizados en la determinación de amino nitrógeno libre (NFA) en materiales que cursan o están destinados a procesos de fermentación alcohólica*. Universidad Nacional Abierta y a Distancia (UNAD). Recuperado de <https://repository.unad.edu.co/handle/10596/43294>

Contreras, A., Hidalgo, C., Henschke, P. A., Chambers, P. J., Curtin, C., & Varela, C. (2014). Evaluation of non-*Saccharomyces* yeasts for the reduction of alcohol content in wine. *Applied and Environmental Microbiology*, 80(5), 1670–1678.

Coombe, B. G., & McCarthy, M. G. (2000). Dynamics of grape berry growth and physiology of ripening. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 6(2), 131-135.

Dangles, O., & Fenger, J.-A. (2018). The chemical reactivity of anthocyanins and its consequences in food science and nutrition. *Molecules*, 23(8), 1970.

Diban, N., Arruti, A., Barceló, A., Puxeu, M., Urtiaga, A., & Ortiz, I. (2013). Membrane dealcoholization of different wine varieties reducing aroma losses. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 20, 259–268.

Dini, I., Di Lorenzo, R., Senatore, A., Coppola, D., & Laneri, S. (2021). Comparison between mid-infrared (ATR-FTIR) spectroscopy and official analysis methods for determination of the concentrations of alcohol, SO₂, and total acids in wine. *Separations*, 8(10), 191.

Di Rienzo, J. A., Casanoves, F., Balzarini, M. G., González, L., Tablada, M., & Robledo, C. W. (2017). *InfoStat versión 2017*. Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina. Recuperado de <http://www.infostat.com.ar>

Ferreira, J., Du Toit, M., & Du Toit, W. J. (2006). The effects of copper and high sugar concentrations on growth, fermentation efficiency and volatile acidity production of different commercial wine yeast strains. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 12(1), 50–56.

Ferrero, L., Beria D'Argentina, S., Paissoni, M. A., Río Segade, S., Rolle, L., & Giacosa, S. (2025). Phenolic budget in red winemaking: Influence of maceration temperature and time. *Food Chemistry*, 482, 144159.

- Finot, M. (2018). *Testing the effect of yeast strain (CY3079 vs. Ionys WF, Scottlabs) and fermentation temperature on chemistry and flavor of Chardonnay*. King Family Vineyards.
- Fleet, G. (2008). Wine yeast for the future. *FEMS Yeast Research*, 8(6), 979–985.
- García-Martín, N., Pérez-Magariño, S., Ortega-Heras, M., González-Huerta, C., Mihnea, M., González-SanJosé, M. L., Palacio, L., Prádanos, P., & Hernández, A. (2011). Sugar reduction in white and red musts with nanofiltration membranes. *Desalination and Water Treatment*, 27(1-3), 167–174.
- Gil, M., Estévez, S., Kontoudakis, N., Fort Marsal, M. F., Canals, J.-M., & Zamora, F. (2013). Influence of partial dealcoholization by reverse osmosis on red wine composition and sensory characteristics. *European Food Research and Technology*, 237, 481–488.
- Godden, P., Wilkes, E. & Johnson, D. (2015), Composition of Australian wine 1984–2014. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 21: 741-753.
- Hidalgo Togores, J. (2010). *Tratado de Enología, Tomo I* (2da ed.). Ediciones Mundi-Prensa.
- Instituto Nacional de Vitivinicultura. (1959). Ley General de Vinos N° 14.878/1959.
- Instituto Nacional de Vitivinicultura. (2012). *Resolución N° 61/2012*. Ministerio de Agricultura, Ganadería y Pesca.
- International Organisation of Vine and Wine. (2003). *Resolution OENO 16/2003: Active Dry Yeasts (A.D.Y.)*. OIV.
- International Organisation of Vine and Wine. (2010). *Resolution OIV-OENO 390/2010: Guidelines on infrared analysers in enology*. OIV.
- International Organisation of Vine and Wine. (2012). *Resolution OIV-OENO 466/2012: Modification of the method of evaluation by refractometry of the sugar concentration in grapes, musts, concentrated grape musts and rectified concentrated grape musts*. OIV.
- International Organisation of Vine and Wine. (2025). *Compendium of international methods of wine and must analysis* (Vol. 1). Dijon, France. OIV.
- Jordão, A. M., Vilela, A., & Cosme, F. (2015). From sugar of grape to alcohol of wine: Sensorial impact of alcohol in wine. *Beverages*, 1(4), 292-310.

- Junquera, P., Lissarrague, J. R., Jiménez, L., Linares, R., & Baeza, P. (2012). Long-term effects of different irrigation strategies on yield components, vine vigour and grape composition in cv. Cabernet-Sauvignon (*Vitis vinifera* L.). *Irrigation Science*, 30, 351–361.
- Keller, M. (2023). Climate change impacts on vineyards in warm and dry areas: Challenges and opportunities. *American Journal of Enology and Viticulture*, 74(2), 0740033.
- Kontoudakis, N., Esteruelas, M., Fort, F., Canals, J. M., & Zamora, F. (2011). Use of unripe grapes harvested during cluster thinning as a method for reducing alcohol content and pH of wine. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 17(2), 230–238.
- Laffort. (2024). *Catálogo Laffort 2024*. Recuperado de https://laffort.com/wp-content/uploads/Catalogues/CT_ES_Laffort_2024.pdf
- Lallemend Oenology. (2024). *IONYSWF™*. Lallemend Wine. Recuperado de <https://www.lallemendwine.com/es/south-america/productos/levaduras-enologicas/ionys-wf/>
- Landin Ross-Magahy, M. (2021). *Estudio de la acidificación de los vinos como estrategia contra los efectos del cambio climático* (Trabajo de fin de grado). Facultad de Ciencia y Tecnología, Universidad de La Rioja.
- Lisanti, M. T., Gambuti, A., Genovese, A., Piombino, P., & Moio, L. (2013). Partial dealcoholization of red wines by membrane contactor technique: Effect on sensory characteristics and volatile composition. *Food and Bioprocess Technology*, 6(9), 2289–2305.
- Longo, R., Blackman, J.W., Torley, P.J., Rogiers, S.Y. & Schmidtke, L.M. (2017), Changes in volatile composition and sensory attributes of wines during alcohol content reduction. *J. Sci. Food Agric.*, 97: 8-16.
- Loyola García, R., Gutiérrez-Gamboa, G., Medel-Marabolí, M., & Díaz-Gálvez, I. (2021). Lowering wine alcohol content by reverse osmosis and spinning cone columns: Effects on sensory characteristics of the beverages. *IVES Technical Reviews*, 2021, Article 4621.
- Martínez de Toda, F., Sancha, J. C., & Balda, P. (2013). Reducing the sugar and pH of the grape (*Vitis vinifera* L. cvs. 'Grenache' and 'Tempranillo') through a single shoot trimming. *South African Journal of Enology and Viticulture*, 34(2), 246–251.

- Martínez-Moreno, A., Martínez-Pérez, P., Bautista-Ortín, A. B., & Gómez-Plaza, E. (2023). Use of unripe grape wine as a tool for reducing alcohol content and improving the quality and oenological characteristics of red wines. *OENO One*, 57(1), 109–119.
- Martín Guindal, A. (2023). *Estrategias de uso de Saccharomyces cerevisiae en fermentaciones aeróbicas* (Tesis doctoral). Universidad de La Rioja, España.
- Mendez, M. P., Sanchez, L. A., & Dokoozlian, N. (2011). Crop load and irrigation management during the latter stages of ripening: Effects on vine water status, fruit dehydration and fruit composition of 'Merlot' grapevines. *Acta Horticulturae*, 889, 67–74.
- Mestre Furlani, M. V., Maturano, Y. P., Combina, M., Mercado, L. A., Toro, M. E., & Vazquez, F. (2017). Selection of non-*Saccharomyces* yeasts to be used in grape musts with high alcoholic potential: A strategy to obtain wines with reduced ethanol content. *FEMS Yeast Research*, 17(2), fox010.
- Mira de Orduña, R. (2010). Climate change associated effects on grape and wine quality and production. *Food Research International*, 43(7), 1844–1855.
- Molina, A., Swiegers, J., Varela, C., Pretorius, I., & Agosin, E. (2008). Influence of wine fermentation temperature on the synthesis of yeast-derived volatile aroma compounds. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 77(1), 675–687.
- Morales, P., Rojas, V., Quirós, M., & Gonzalez, R. (2015). The impact of oxygen on the final alcohol content of wine fermented by a mixed starter culture. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 99, 3993–4003.
- Nazralla, J. J. B., Paladino, S. C., Vila, H. F., & Lucero, C. C. (2009). *Manual de técnicas analíticas para mostos y vinos*. Ediciones INTA.
- Novello, V., & De Palma, L. (2013). Viticultural strategy to reduce alcohol levels in wine. *Alcohol Level Reduction in Wine*, 3–8.
- O'Brien, P., Collins, C., & De Bei, R. (2021). Leaf removal applied to a sprawling canopy to regulate fruit ripening in Cabernet Sauvignon. *Plants*, 10(5), 1017.
- Pascual, O., Pons-Mercadé, P., Gombau, J., Ortiz-Julien, A., Heras, J., Fort Marsal, M. F., Canals, J.-M., & Zamora, A. (2017). Study of the effectiveness of a strain of *Saccharomyces*

cerevisiae selected for the production of wines with higher acidity and lower alcoholic strength. *BIO Web of Conferences*, 9, 02002.

Peltier, E., Vion, C., Abou Saada, O., Friedrich, A., Schacherer, J., & Marullo, P. (2021). Flor yeasts rewire the central carbon metabolism during wine alcoholic fermentation. *Frontiers in Fungal Biology*, 2.

Petrozziello, M., Panero, L., Guaita, M., Prati, R., Marani, G., Zinzani, G., & Bosso, A. (2019). Effect of the extent of ethanol removal on the volatile compounds of a Chardonnay wine dealcoholized by vacuum distillation. *BIO Web of Conferences*, 12, 02020.

Ponce, F., Mirabal-Gallardo, Y., Versari, A., & Laurie, F. (2018). The use of cation exchange resins in wines: Effects on pH, tartrate stability, and metal content. *Ciencia e investigación agraria*, 45(1), 82-92.

Ribéreau-Gayon, P., Dubourdieu, D., Donèche, B., & Lonvaud, A. (2003a). *Tratado de enología. Tomo I: Microbiología del vino – Vinificaciones* (1ª ed.). Ediciones Hemisferio Sur-Mundi-Prensa.

Ribéreau-Gayon, P., Glories, Y., Maujean, A., & Dubourdieu, D. (2003b). *Tratado de enología. Tomo II: Química del vino – Estabilización y tratamientos* (1ª ed.). Ediciones Hemisferio Sur-Mundi-Prensa.

Santamaría Martínez, M. P., López Martín, R., Gutiérrez Viguera, A. R., & García-Escudero Domínguez, E. (1995). Influencia de la temperatura en la fermentación alcohólica. *Zubía*, (Extra 7), 137-149.

Schmitt, M., & Christmann, M. (2019). Alcohol reduction by physical methods. *Advances in Grape and Wine Biotechnology*.

Scutarașu, E. C., Teliban, I. V., Zamfir, C. I., Luchian, C. E., Colibaba, L. C., Niculaua, M., & Cotea, V. V. (2021). Effect of different winemaking conditions on organic acids compounds of white wines. *Foods*, 10(11), 2569.

Secretaría de Agricultura, Ganadería y Pesca. (2023). *Resolución 3/2023*. Boletín Oficial de la República Argentina. Recuperado de <https://www.boletinoficial.gob.ar/detalleAviso/primera/318654/1>

Secretaría de Agricultura, Ganadería y Pesca. (2024). *Resolución 6/2024*. Boletín Oficial de la República Argentina. Recuperado de <https://www.boletinoficial.gob.ar/detalleAviso/primera/301506/1>

Stoll, M., Scheidweiler, M., Blank, M., & Schultz, H. R. (2010). Possibilities to reduce the velocity of berry maturation through various leaf area to fruit ratio modifications in *Vitis vinifera* L. Riesling. *Prog. Agric. Vitic.*, 127, 68–71.

Straffelini, E., Carrillo, N., Schilardi, C., Aguilera, R., Estrella Orrego, M. J., & Tarolli, P. (2023). Viticulture in Argentina under extreme weather scenarios: Actual challenges, future perspectives. *Geography and Sustainability*, 4(2), 161–169.

Su, J., Wang, T., Wang, Y., Li, Y.-Y., & Li, H. (2014). The use of lactic acid-producing, malic acid-producing, or malic acid-degrading yeast strains for acidity adjustment in the wine industry. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 98(6), 2395–2413.

Symons, G. M., Davies, C., Shavrukov, Y., Dry, I. B., Reid, J. B., & Thomas, M. R. (2006). Grapes on steroids: Brassinosteroids are involved in grape berry ripening. *Plant Physiology*, 140(1), 150–158.

Teng, B., Petrie, P. R., Smith, P. A., & Bindon, K. A. (2020). Comparison of water addition and early-harvest strategies to decrease alcohol concentration in *Vitis vinifera* cv. Shiraz wine: Impact on wine phenolics, tannin composition and colour properties. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 26(2), 158-171.

van Leeuwen, C., & Darriet, P. (2016). The impact of climate change on viticulture and wine quality. *Journal of Wine Economics*, 11(2), 150–167.

Varela, C., Dry, P. R., Kutyna, D. R., Francis, I. L., Henschke, P. A., Curtin, C. D., & Chambers, P. J. (2015). Strategies for reducing alcohol concentration in wine. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 21, 670–679.

Varela, C., Kutyna, D. R., Solomon, M. R., Black, C. A., Borneman, A., Henschke, P. A., Pretorius, I. S., & Chambers, P. J. (2012). Evaluation of gene modification strategies for the development of low-alcohol-wine yeasts. *Applied and Environmental Microbiology*, 78(17), 6068–6077.

Venanzi, L. H. (2014). *Estudio de métodos de extracción de compuestos fenólicos de orujos*

provenientes de vinificación de uvas cv Malbec (Tesina de grado). Universidad Nacional de Cuyo, Facultad de Ciencias Agrarias. <https://bdigital.uncu.edu.ar/6467>

Vicente, J., Baran, Y., Navascués, E., Santos, A., Calderón, F., Marquina, D., Rauhut, D., & Benito, S. (2022). Biological management of acidity in wine industry: A review. *International Journal of Food Microbiology*, 375, 109726.

Vilela, A., Schuller, D., Mendes-Faia, A., Silva, R., Chaves, S., Sousa, M., & Côrte-Real, M. (2010). The impact of acetate metabolism on yeast fermentative performance and wine quality: Reduction of volatile acidity of grape musts and wines. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 89(2), 271–280.

Vion, C., Muro, M., Bernard, M., Richard, B., Valentine, F., Yeramian, N., Masneuf-Pomarède, I., Tempère, S., & Marullo, P. (2023). New malic acid producer strains of *Saccharomyces cerevisiae* for preserving wine acidity during alcoholic fermentation. *Food Microbiology*, 112, 104209.

Vion, C., Yeramian, N., Hranilovic, A., Masneuf-Pomarède, I., & Marullo, P. (2024). Influence of yeasts on wine acidity: New insights into *Saccharomyces cerevisiae*. *OENO One*, 58(4).

Yeramian, N., Chaya, C., & Lepe, J. (2007). *l*-(–)-Malic acid production by *Saccharomyces* spp. during the alcoholic fermentation of wine. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(5), 912–919.

Zelle, R. M., de Hulster, E., van Winden, W. A., de Waard, P., Dijkema, C., Winkler, A. A., Geertman, J. A., van Dijken, J. P., Pronk, J. T., & van Maris, A. J. A. (2008). Malic acid production by *Saccharomyces cerevisiae*: Engineering of pyruvate carboxylation, oxaloacetate reduction, and malate export. *Applied and Environmental Microbiology*, 74(9), 2766–2777.

Zoecklein, B. W., Fugelsang, K. C., Gump, B. H., & Nury, F. S. (1999). *Laboratory procedures*. In *Wine analysis and production* (pp. 310–516). Springer.

ANEXO A. Ficha Técnica Zymaflore™ FX10.

VINO TINTO

LEVADURAS
ZYMAFLORE®



ZYMAFLORE® FX10

Levadura *Saccharomyces cerevisiae* para grandes vinos tintos, elegantes y estructurados.

Levadura seca activa (LSA) seleccionada, no OGM, para uso Enológico. Apto para la elaboración de productos destinados al consumo humano directo, dentro del marco legal vigente para la enología. Conforme al Reglamento (UE) 2019/934.

ESPECIFICACIONES Y PROPIEDADES ENOLÓGICAS

ZYMAFLORE® FX10 es la cepa para grandes vinos tintos definidos por su elegancia, que combinan estructura, volumen en boca e intensidad colorante. La técnica, mejora genética dirigida (cruce no OGM) ha permitido conferir a esta cepa una mayor resistencia a temperaturas elevadas, asegurando de esta forma una gran seguridad fermentativa. Particularmente recomendado para la elaboración de vinos de gama alta, especialmente de Cabernet Sauvignon o de Merlot.

CARACTERÍSTICAS FERMENTATIVAS

- Excelente capacidad de asimilación de fructosa.
- Tolerancia al alcohol: hasta 16% vol.
- Amplia tolerancia a las temperaturas: 20 - 35°C.
- Bajas necesidades de nitrógeno.

CARACTERÍSTICAS ORGANOLÉPTICAS

- Liberación importante de polisacáridos (volumen).
- Preserva el potencial polifenólico (estructura y color).
- Los polisacáridos parietales se combinan con los taninos del vino, esto los vuelve sedosos, incluso con concentraciones importantes.
- Muy buena aptitud para la crianza sobre lías.
- Respeto del terroir (muy baja producción de aromas de fermentación).

RESULTADOS EXPERIMENTALES

- Cabernet Sauvignon, Bordeaux 2007.

Temperatura de fermentación 28-32°C, adición de levaduras durante el encubado, maceración de 13 días. TAP 13,5% vol., pH 3,74, AT 4,65 g/L H₂SO₄. Controles de implantación de las levaduras positivos.

MODALIDAD	FX10	TESTIGO
Polisacáridos (mg/L)	440	416
GELATIN INDEX (reactividad de los taninos)	51	62
ASTRINGENCY INDEX (apreciación de la astringencia en degustación)	5.2	6.2

Durante la cata, el vino fermentado por ZYMAFLORE® FX10 era más elegante, presentaba un mayor volumen en boca (polisacáridos) y más taninos sedosos, mientras que el vino testigo se mostró más 'rugoso' y menos suave.


LAFFORT
l'œnologie par nature

CARACTERÍSTICAS FÍSICAS

Levaduras deshidratadas y envasadas al vacío.

Aspecto granulados

ANÁLISIS QUÍMICOS Y MICROBIOLÓGICOS

Humedad (%)..... < 8
Células revivificables LSAS (UFC/g)..... $\geq 2.10^{10}$
Bacterias lácticas (UFC/g) < 10^5
Bacterias acéticas (UFC/g) < 10^4
Levaduras de un género diferente
a *Saccharomyces* (UFC/g)..... < 10^5
Levaduras de una especie o cepa diferente (%) < 5
Coliformes (UFC/g)..... < 10^2

E. Coli (/g) ausencia
Staphylococcus (/g) ausencia
Salmonella (/25 g) ausencia
Mohos (UFC/g) < 10^3
Plomo (ppm) < 2
Arsénico (ppm) < 3
Mercurio (ppm) < 1
Cadmio (ppm) < 1

PROTOCOLO DE UTILIZACIÓN

CONDICIONES ENOLÓGICAS

- Siembra con levaduras lo antes posible después del encubado.
- Respetar las dosis prescritas para garantizar una buena implantación de la levadura incluso en caso de gran población de levaduras autóctonas.
- La temperatura, la cepa de la levadura, la rehidratación y la higiene de la bodega son primordiales para una buena implantación.

DOSIS DE EMPLEO

- 20 - 30 g/hL.
- En el caso de la maceración prefermentativa en frío, es aconsejable adicionar 5 g/hL de levadura durante el encubado, para dominar la flora indígena, y luego completar con 15 - 25 g/hL al final de la maceración, antes de aumentar la temperatura.

MODO DE EMPLEO

- Seguir exactamente el protocolo de rehidratación de la levadura descrito en el envase.
- Evitar diferencias de temperatura superiores a los 10°C entre el mosto y el inóculo durante la inoculación. El tiempo total de preparación del inóculo no debe superar los 45 minutos.
- En el caso de vendimias con un grado alcohólico probable elevado y para minimizar la formación de acidez volátil, utilizar el preparador SUPERSTART® ROUGE en el agua de rehidratación.

RECOMENDACIÓN DE CONSERVACIÓN

- Conservar fuera del suelo en su embalaje de origen, sin abrir a temperatura moderada en locales secos no susceptibles de comunicar olores.
- Fecha de utilización óptima: 4 años.

ENVASES

Bolsa envasada al vacío de 500 g. Cajas de 10 kg.



CS 61 611 – 33072 BORDEAUX CEDEX – Tél.: +33 (0)5 56 86 53 04 – www.laffort.com

AH - AJ - 11.0724 - La información que aquí figura corresponde al estado actual de nuestro conocimiento. Esta es proporcionada sin compromiso o garantía en la medida que las condiciones de empleo están fuera de nuestro control. Ello no libera al usuario de respetar la legislación y los datos de seguridad en vigor.

ANEXO B. Ficha Técnica Zymaflore™ KLIMA.

TODO TIPO DE VINOS

LEVADURAS
ZYMAFLORE



ZYMAFLORE® KLIMA

Levadura *Saccharomyces cerevisiae* seleccionada por su capacidad de reducir el grado alcohólico y favorecer el frescor de los vinos.

Levadura Seca Activa (LSA) seleccionada no OGM, para su uso enológico. Apto para la elaboración de productos destinados al consumo humano directo, dentro del marco legal vigente para la enología. Conforme al Reglamento (UE) 2019/934.

ESPECIFICACIONES Y PROPIEDADES ENOLÓGICAS

Resultado de un programa de selección asistida por marcadores moleculares (QTL), ZYMAFLORE® KLIMA permite reducir el grado alcohólico de los vinos preservando su acidez. Adecuada para la elaboración de vinos blancos, rosados y tintos bien equilibrados, con una frescura y elegancia excepcionales.

CARACTERÍSTICAS FERMENTATIVAS

- Reducción del contenido de alcohol hasta 0,5 % vol.
- Conservación o producción de ácido málico durante la FA.
- Buena cinética de la FA. Resistencia al alcohol: 16 % vol.
- Alta necesidad de nitrógeno.
- Muy baja producción de acidez volátil y SO₂.
- Temperatura de fermentación (óptima): 14 - 30 °C *.

CARACTERÍSTICAS AROMÁTICAS

- Perfil aromático elegante: notas afrutadas y florales.
- Aporta tensión y frescura aromática.

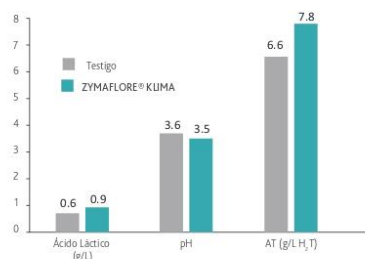
* Es posible inocular a T°C de 8 - 13 °C, después del desfangado, siendo indispensable la aclimatación de la levadura a la temperatura mediante una adición sucesiva de mosto.

RESULTADOS EXPERIMENTALES

ZYMAFLORE® KLIMA permite una reducción del grado alcohólico y del pH, un aumento de la acidez total y del ácido málico de los vinos.

Gracias a su producción de ácido málico, los vinos fermentados con ZYMAFLORE® KLIMA presentan un contenido de ácido láctico más elevado al final de la FML.

Parámetros	Cepa de control	ZYMAFLORE® KLIMA
%Alc. (% vol)	13,6	13,1
pH	3,5	3,4
Acidez total (g/L ácido tartárico)	7,2	8,9
Ácido Málico (g/L)	1,2	1,6



Impacto de ZYMAFLORE® KLIMA sobre los parámetros físico-químicos de un vino tinto post FA (tabla) y post FML (gráfica).
Merlot, Burdeos, 2022, pH 3,5, AT 3,5 g/L H₂T, ácido málico 1,2 g/L.

CARACTERÍSTICAS FÍSICAS

Levaduras deshidratadas y envasadas al vacío.

Aspecto..... granulado

ANÁLISIS QUÍMICOS Y MICROBIOLÓGICOS

Humedad (%) < 8
Células revivificables LSAS (UFC/g) $\geq 2.10^{10}$
Bacterias lácticas (UFC/g) < 10^5
Bacterias acéticas (UFC/g) < 10^4
Levaduras de un género diferente de *Saccharomyces* (UFC/g) .. < 10^5
Levadura de un género, de una especie o cepa diferente (%) .. < 5
Coliformes (UFC/g) < 10^2
E. coli (/g) ausencia

Staphylococcus (/g) ausencia
Salmonella (/25 g) ausencia
Mohos (UFC/g) < 10^3
Plomo (ppm) < 2
Arsénico (ppm) < 3
Mercurio (ppm) < 1
Cadmio (ppm) < 1

PROTOCOLO DE UTILIZACIÓN

CONDICIONES ENOLÓGICAS

- Sembrar la levadura lo antes posible después del encubado.
- Respetar las dosis de inoculación para asegurar una buena implantación de la levadura, incluso en el caso de una alta población de levaduras autóctonas.
- La temperatura, la calidad de la rehidratación y la higiene de la bodega también son fundamentales para una correcta implantación.

DOSIS DE EMPLEO

- 20 - 30 g/hL.

MODO DE EMPLEO

- Seguir bien el protocolo de rehidratación de la levadura.
- Evitar las diferencias de temperatura entre el mosto y la levadura en el momento de la inoculación. El tiempo total de la preparación no excederá de 45 minutos.
- En el caso de condiciones especialmente difíciles de fermentación (temperatura muy baja, mosto muy clarificado, GAP muy elevado) y/o para optimizar el rendimiento aromático de la levadura, utilizar **SUPERSTART® BLANC** o **SUPERSTART® ROUGE** en el agua de rehidratación.

RECOMENDACIONES DE CONSERVACIÓN

- Conservar fuera del suelo en su embalaje de origen no abierto a temperatura moderada en locales secos nos susceptibles de comunicar olores.
- Fecha de utilización óptima: 4 años.

ENVASES

Bolsa al vacío de 500 g.



CS 61 611 – 33072 BORDEAUX CEDEX – Tél.: +33 (0)5 56 86 53 04 – www.laffort.com

AH - A1 - 22.04.24- La información que aquí figura corresponde al estado actual de nuestro conocimiento. Esta es proporcionada sin compromiso o garantía en la medida que las condiciones de empleo están fuera de nuestro control. Ello no libera al usuario de respetar la legislación y los datos de seguridad en vigor.

ANEXO C. Ficha Técnica SUPERSTART®.

FICHA TÉCNICA

SUPERSTART®

Preparador 100% de origen de levadura (a base de autolisados de levadura y de levaduras inactivadas).
Apto para la elaboración de productos destinados al consumo humano directo dentro del marco legal vigente para la
Enología. Conforme al Reglamento (UE) n°2019/934.

Características físicas

Aspecto..... polvo
Color beige
Densidad aparente 600 g/L aprox.

Análisis químicos y biológicos

Humedad.....	< 7 %	Arsénico	< 3 ppm
Nitrógeno total	< 11%	Plomo	< 2 ppm
Salmonelas /25g	ausencia	Mercurio.....	< 1 ppm
<i>Escherichia coli</i> / g	ausencia	Cadmio	< 1 ppm
<i>Staphylococcus aureus</i> / g	ausencia		

Empleo en enología

Propiedades: Preparador de levaduras de empleo en el agua de rehidratación de las LSA.

Dosis media de empleo: 20 - 30 g/hL de mosto a fermentar en el agua de rehidratación de las LSA.

Para el pie de cuba en caso de parada de fermentación, consultar el protocolo de refermentación.

Preparación: Utilizar un recipiente limpio e inerte.
Añadir en agua de rehidratación antes de la incorporación de las levaduras.
No usar un recipiente abierto.

Utilización: seguir los protocolos restablecidos.

Recomendación de conservación

Conservar fuera del suelo en su embalaje de origen, sin abrir a temperatura moderada en locales secos no susceptibles de comunicar olores. No utilizar envases abiertos.

Fecha de consumo preferente: 3 años (envase no abierto).

Envase

Bolsa de 10 Kg.



LAFFORT
l'œnologie par nature

CS 61 611 - 33072 - BORDEAUX CEDEX
Tel : +33 (0) 556 86 53 04 - Fax : +33 (0) 556 86 30 50
www.laffort.com

EC-10/12/2019

ANEXO D. Ficha Técnica NUTRISTART®.

NUTRISTART®

NUTRIENTES
Nutrir la levadura

Activador complejo de fermentación que asocia los elementos nutritivos que favorecen la multiplicación de las levaduras.
(Fosfato de amonio, levaduras inactivadas, autolizados de levadura, tiamina).

*Apto para la elaboración de productos destinados al consumo humano directo, dentro del marco legal vigente para la enología.
Conforme al Reglamento (UE) 2019/934.*

ESPECIFICACIONES

Activador complejo que combina el nitrógeno orgánico, el mineral y la tiamina. Esta específica formulación asocia diferentes fuentes de nitrógeno asimilable (fosfato amónico, levadura inerte, autolizados de levadura) que permiten un aporte a la levadura de nitrógeno mineral de rápida asimilación, y de nitrógeno orgánico de origen de levadura en forma de levadura inactivada y autolizados de levadura ricos en aminoácidos y de asimilación mas lenta. Los autolizados de levadura son sensiblemente mas ricos en contenido celular y aportan una biodisponibilidad nutricional en factores de crecimiento mas importante que las levaduras inertes que tienen una mayor fracción de membrana. La complementariedad de estos dos derivados de levadura hacen de **NUTRISTART®** un nutriente áltamente eficaz.

NUTRISTART® permite:

- Desarrollar una población de levaduras suficiente.
- Una fermentación alcohólica constante y completa.
- La prevención de la formación de compuestos indeseables (H₂S, AV, etc.).

PROPIEDADES ENOLÓGICAS

- **NUTRISTART®** se utiliza para todos los tipos de mostos (blancos, rosados o tintos).
- 10 g/hL de **NUTRISTART®** aportan 15 mg/L de nitrógeno asimilable (forma mineral y orgánico).
- 10 g/hL de **NUTRISTART®** aportan 0,1 mg/L de tiamina (clorhidrato).
- Utilizar en caso de carencia de elementos nutritivos en el mosto.

RESULTADOS CIENTÍFICOS

Las levaduras Inactivadas aportan factores de supervivencia (ácidos grasos de cadena larga, esteroides) y factores de crecimiento (aminoácidos, minerales y vitaminas). Las sales de amonio (fosfato) son otros factores de crecimiento indispensables.

En el contexto de una gestión razonada de las fermentaciones, es importante considerar que una fermentación alcohólica constante y completa es un factor esencial para el arranque de la fermentación maloláctica.

CARACTERÍSTICAS FÍSICAS

Aspecto polvo Densidad aparente (g/L) ≈ 1200
Color beige



ANÁLISIS QUÍMICOS Y MICROBIOLÓGICOS

Humedad (%)	< 7	Bacterias acéticas (UFC/g)	< 10 ³
Plomo (ppm)	< 4	Coliformes (UFC/g)	< 10 ²
Arsénico (ppm)	< 3	<i>E.coli</i> (/g)	ausencia
Mercurio (ppm)	< 1	<i>Staphylococcus</i> (/g)	ausencia
<u>Específicos para los derivados de levadura:</u>			
Levures revivificables (UFC/g)	< 10 ²	<i>Salmonella</i> (/25 g)	ausencia
Mohos (UFC/g)	< 10 ³	<u>Específicos para el fosfato de amonio:</u>	
Bacterias lácticas (UFC/g)	< 10 ³	Hierro (ppm)	< 50

PROTOCOLO DE UTILIZACIÓN

CONDICIONES ENOLÓGICAS

No mezclar la preparación con las levaduras secas activas (LSA). Preparar **NUTRISTART®** y adicionarlo al depósito después de la inoculación con LSA.

Se recomienda la adición de **NUTRISTART®** al inicio de la fermentación alcohólica, tras una bajada de la densidad de unos 30 puntos.

DOSIS DE EMPLEO

- De 20 a 60 g/hL en blancos, rosados y tintos. La dosis será en función del contenido inicial de nitrógeno asimilable del mosto, del grado alcohólico potencial y de la turbidez.
- Dosis máxima legal UE: 60 g/hL. La dosis máxima de **NUTRISTART®** aporta 60 mg/hL de tiamina. Segunda fermentación de vinos espumosos: 45 g/hL.

MODO DE EMPLEO

En tinto, **NUTRISTART®** puede adicionarse directamente en el depósito de remontado.

En blanco, introducir la cantidad total de **NUTRISTART®** a adicionar en 10 veces su peso de agua o de mosto. Mezclar bien para disolver correctamente el fosfato e introducirlo enseguida en el depósito durante un remontado.

RECOMENDACIÓN DE CONSERVACIÓN

- Conservar fuera del suelo en su embalaje de origen, sin abrir a temperatura moderada en locales secos no susceptibles de comunicar olores.
- Fecha de utilización óptima: 4 años.

ENVASES

- Bolsa de 1 kg – Caja de 15 kg.
- Bolsa de 5 kg – Caja de 15 kg.
- Saco de 20 kg.



CS 61 611 – 33072 BORDEAUX CEDEX – Tél.: +33 (0)5 56 86 53 04 – www.laffort.com

GM – MB – 05.08.2024 – La información que aquí figura corresponde al estado actual de nuestro conocimiento. Esta es proporcionada sin compromiso o garantía en la medida que las condiciones de empleo están fuera de nuestro control. Ello no libera al usuario de respetar la legislación y los datos de seguridad en vigor.

ANEXO E. Resolución OIV-OENO 466-2012 (OIV, 2012).



RESOLUTION OIV-OENO 466-2012

MODIFICATION OF THE METHOD OF EVALUATION BY REFRACTOMETRY OF THE SUGAR CONCENTRATION IN GRAPES, MUSTS, CONCENTRATED GRAPE MUSTS AND RECTIFIED CONCENTRATED GRAPE MUSTS (OENO 21/2004)

THE GENERAL ASSEMBLY

In view of article 2, paragraph 2 iv of the Agreement of 3rd April 2001 establishing the International Organisation of Vine and Wine,

At the proposal of the Methods of Analysis Sub-commission,

GIVEN that a table was given in pre-existing internationally recognised regulations containing the correspondence between the refractive index, the sucrose % (m/m), the sugar level expressed in g/l and g/kg and the potential alcoholic strength by volume (ABV) for musts and concentrated musts

GIVEN the linear relationship (coefficient of regression = 1.0000) that exists between the sugar values in g/l contained in the aforementioned table, and the corresponding potential alcoholic strength by volume (ABV) percentage expressed by:
 $\text{sugar level in g/l} \times 0.05943 = \text{alcoholic strength by volume (ABV) \%}$

GIVEN that pre-existing internationally recognised regulations gave the correspondence between the refractive index expressed in sucrose % (m/m) and the alcoholic strength by volume (ABV) % for grape sugar in the relative annexes

HAVING CONSIDERED that the tables facilitating the calculation of sugar transformation into alcohol must be kept available to wine operators even after the repeal of said regulations

DECIDES to modify tables II and III of the type I method of evaluation by refractometry of the sugar concentration in grapes, musts, concentrated grape musts and rectified concentrated grape musts (OENO 21/2004) in the Compendium of International Methods of Analysis, by adding the data for the potential Alcoholic strength by volume (ABV) % at 20 °C as follows:

*Certified in conformity
Izmir, 22nd June 2012
The General Director of the OIV
Secretary of the General Assembly*

Federico CASTELLUCCI

© OIV 2012

1

TABLE II

Table giving the sugar content in musts and concentrated musts in grams per litre and grams per kilogram, determined by means of a refractometer graduated either in percentage by mass of sucrose at 20 °C, or in refractive index at 20 °C. The density and the potential % alcoholic strength by volume (ABV) at 20 °C are also given.

Saccharose % (m/m)	Refractive index at 20 °C	Density at 20 °C	Sugars in g/l	Sugars in g/kg	ABV % vol at 20 °C
10.0	1.34782	1.0391	82.2	79.1	4.89
10.1	1.34798	1.0395	83.3	80.1	4.95
10.2	1.34813	1.0399	84.3	81.1	5.01
10.3	1.34829	1.0403	85.4	82.1	5.08
10.4	1.34844	1.0407	86.5	83.1	5.14
10.5	1.34860	1.0411	87.5	84.1	5.20
10.6	1.34875	1.0415	88.6	85.0	5.27
10.7	1.34891	1.0419	89.6	86.0	5.32
10.8	1.34906	1.0423	90.7	87.0	5.39
10.9	1.34922	1.0427	91.8	88.0	5.46
11.0	1.34937	1.0431	92.8	89.0	5.52
11.1	1.34953	1.0436	93.9	90.0	5.58
11.2	1.34968	1.0440	95.0	91.0	5.65
11.3	1.34984	1.0444	96.0	92.0	5.71
11.4	1.34999	1.0448	97.1	92.9	5.77
11.5	1.35015	1.0452	98.2	93.9	5.84
11.6	1.35031	1.0456	99.3	94.9	5.90
11.7	1.35046	1.0460	100.3	95.9	5.96
11.8	1.35062	1.0464	101.4	96.9	6.03
11.9	1.35077	1.0468	102.5	97.9	6.09
12.0	1.35093	1.0472	103.5	98.9	6.15
12.1	1.35109	1.0477	104.6	99.9	6.22
12.2	1.35124	1.0481	105.7	100.8	6.28
12.3	1.35140	1.0485	106.8	101.8	6.35
12.4	1.35156	1.0489	107.8	102.8	6.41
12.5	1.35171	1.0493	108.9	103.8	6.47
12.6	1.35187	1.0497	110.0	104.8	6.54
12.7	1.35203	1.0501	111.1	105.8	6.60
12.8	1.35219	1.0506	112.2	106.8	6.67
12.9	1.35234	1.0510	113.2	107.8	6.73
13.0	1.35250	1.0514	114.3	108.7	6.79
13.1	1.35266	1.0518	115.4	109.7	6.86
13.2	1.35282	1.0522	116.5	110.7	6.92
13.3	1.35298	1.0527	117.6	111.7	6.99
13.4	1.35313	1.0531	118.7	112.7	7.05
13.5	1.35329	1.0535	119.7	113.7	7.11
13.6	1.35345	1.0539	120.8	114.7	7.18
13.7	1.35361	1.0543	121.9	115.6	7.24
13.8	1.35377	1.0548	123.0	116.6	7.31
13.9	1.35393	1.0552	124.1	117.6	7.38
14.0	1.35408	1.0556	125.2	118.6	7.44
14.1	1.35424	1.0560	126.3	119.6	7.51
14.2	1.35440	1.0564	127.4	120.6	7.57
14.3	1.35456	1.0569	128.5	121.6	7.64
14.4	1.35472	1.0573	129.6	122.5	7.70
14.5	1.35488	1.0577	130.6	123.5	7.76
14.6	1.35504	1.0581	131.7	124.5	7.83
14.7	1.35520	1.0586	132.8	125.5	7.89
14.8	1.35536	1.0590	133.9	126.5	7.96
14.9	1.35552	1.0594	135.0	127.5	8.02

*Certified in conformity
Izmir, 22nd June 2012
The General Director of the OIV
Secretary of the General Assembly*

Federico CASTELLUCCI

TABLE II - (cont'd)

Saccharose % (m/m)	Refractive index at 20 °C	Density at 20 °C	Sugars in g/l	Sugars in g/kg	ABV % vol at 20 °C
15.0	1.35568	1.0598	136.1	128.4	8.09
15.1	1.35584	1.0603	137.2	129.4	8.15
15.2	1.35600	1.0607	138.3	130.4	8.22
15.3	1.35616	1.0611	139.4	131.4	8.28
15.4	1.35632	1.0616	140.5	132.4	8.35
15.5	1.35648	1.0620	141.6	133.4	8.42
15.6	1.35664	1.0624	142.7	134.3	8.48
15.7	1.35680	1.0628	143.8	135.3	8.55
15.8	1.35696	1.0633	144.9	136.3	8.61
15.9	1.35713	1.0637	146.0	137.3	8.68
16.0	1.35729	1.0641	147.1	138.3	8.74
16.1	1.35745	1.0646	148.2	139.3	8.81
16.2	1.35761	1.0650	149.3	140.2	8.87
16.3	1.35777	1.0654	150.5	141.2	8.94
16.4	1.35793	1.0659	151.6	142.2	9.01
16.5	1.35810	1.0663	152.7	143.2	9.07
16.6	1.35826	1.0667	153.8	144.2	9.14
16.7	1.35842	1.0672	154.9	145.1	9.21
16.8	1.35858	1.0676	156.0	146.1	9.27
16.9	1.35874	1.0680	157.1	147.1	9.34
17.0	1.35891	1.0685	158.2	148.1	9.40
17.1	1.35907	1.0689	159.3	149.1	9.47
17.2	1.35923	1.0693	160.4	150.0	9.53
17.3	1.35940	1.0698	161.6	151.0	9.60
17.4	1.35956	1.0702	162.7	152.0	9.67
17.5	1.35972	1.0707	163.8	153.0	9.73
17.6	1.35989	1.0711	164.9	154.0	9.80
17.7	1.36005	1.0715	166.0	154.9	9.87
17.8	1.36021	1.0720	167.1	155.9	9.93
17.9	1.36038	1.0724	168.3	156.9	10.00
18.0	1.36054	1.0729	169.4	157.9	10.07
18.1	1.36070	1.0733	170.5	158.9	10.13
18.2	1.36087	1.0737	171.6	159.8	10.20
18.3	1.36103	1.0742	172.7	160.8	10.26
18.4	1.36120	1.0746	173.9	161.8	10.33
18.5	1.36136	1.0751	175.0	162.8	10.40
18.6	1.36153	1.0755	176.1	163.7	10.47
18.7	1.36169	1.0760	177.2	164.7	10.53
18.8	1.36185	1.0764	178.4	165.7	10.60
18.9	1.36202	1.0768	179.5	166.7	10.67
19.0	1.36219	1.0773	180.6	167.6	10.73
19.1	1.36235	1.0777	181.7	168.6	10.80
19.2	1.36252	1.0782	182.9	169.6	10.87
19.3	1.36268	1.0786	184.0	170.6	10.94
19.4	1.36285	1.0791	185.1	171.5	11.00
19.5	1.36301	1.0795	186.2	172.5	11.07
19.6	1.36318	1.0800	187.4	173.5	11.14
19.7	1.36334	1.0804	188.5	174.5	11.20
19.8	1.36351	1.0809	189.6	175.4	11.27
19.9	1.36368	1.0813	190.8	176.4	11.34

*Certified in conformity
Izmir, 22nd June 2012
The General Director of the OIV
Secretary of the General Assembly*

Federico CASTELLUCCI

TABLE II - (cont'd)

Saccharose % (m/m)	Refractive index at 20 °C	Density at 20 °C	Sugars in g/l	Sugars in g/kg	ABV % vol at 20 °C
20.0	1.36384	1.0818	191.9	177.4	11.40
20.1	1.36401	1.0822	193.0	178.4	11.47
20.2	1.36418	1.0827	194.2	179.3	11.54
20.3	1.36434	1.0831	195.3	180.3	11.61
20.4	1.36451	1.0836	196.4	181.3	11.67
20.5	1.36468	1.0840	197.6	182.3	11.74
20.6	1.36484	1.0845	198.7	183.2	11.81
20.7	1.36501	1.0849	199.8	184.2	11.87
20.8	1.36518	1.0854	201.0	185.2	11.95
20.9	1.36535	1.0858	202.1	186.1	12.01
21.0	1.36551	1.0863	203.3	187.1	12.08
21.1	1.36568	1.0867	204.4	188.1	12.15
21.2	1.36585	1.0872	205.5	189.1	12.21
21.3	1.36602	1.0876	206.7	190.0	12.28
21.4	1.36619	1.0881	207.8	191.0	12.35
21.5	1.36635	1.0885	209.0	192.0	12.42
21.6	1.36652	1.0890	210.1	192.9	12.49
21.7	1.36669	1.0895	211.3	193.9	12.56
21.8	1.36686	1.0899	212.4	194.9	12.62
21.9	1.36703	1.0904	213.6	195.9	12.69
22.0	1.36720	1.0908	214.7	196.8	12.76
22.1	1.36737	1.0913	215.9	197.8	12.83
22.2	1.36754	1.0917	217.0	198.8	12.90
22.3	1.36771	1.0922	218.2	199.7	12.97
22.4	1.36787	1.0927	219.3	200.7	13.03
22.5	1.36804	1.0931	220.5	201.7	13.10
22.6	1.36821	1.0936	221.6	202.6	13.17
22.7	1.36838	1.0940	222.8	203.6	13.24
22.8	1.36855	1.0945	223.9	204.6	13.31
22.9	1.36872	1.0950	225.1	205.5	13.38
23.0	1.36889	1.0954	226.2	206.5	13.44
23.1	1.36906	1.0959	227.4	207.5	13.51
23.2	1.36924	1.0964	228.5	208.4	13.58
23.3	1.36941	1.0968	229.7	209.4	13.65
23.4	1.36958	1.0973	230.8	210.4	13.72
23.5	1.36975	1.0977	232.0	211.3	13.79
23.6	1.36992	1.0982	233.2	212.3	13.86
23.7	1.37009	1.0987	234.3	213.3	13.92
23.8	1.37026	1.0991	235.5	214.2	14.00
23.9	1.37043	1.0996	236.6	215.2	14.06
24.0	1.37060	1.1001	237.8	216.2	14.13
24.1	1.37078	1.1005	239.0	217.1	14.20
24.2	1.37095	1.1010	240.1	218.1	14.27
24.3	1.37112	1.1015	241.3	219.1	14.34
24.4	1.37129	1.1019	242.5	220.0	14.41
24.5	1.37146	1.1024	243.6	221.0	14.48
24.6	1.37164	1.1029	244.8	222.0	14.55
24.7	1.37181	1.1033	246.0	222.9	14.62
24.8	1.37198	1.1038	247.1	223.9	14.69
24.9	1.37216	1.1043	248.3	224.8	14.76

*Certified in conformity
Izmir, 22nd June 2012
The General Director of the OIV
Secretary of the General Assembly*

Federico CASTELLUCCI

TABLE II - (cont'd)

Saccharose % (m/m)					ABV % vol at 20 °C
25.0	1.37233	1.1047	249.5	225.8	14.83
25.1	1.37250	1.1052	250.6	226.8	14.89
25.2	1.37267	1.1057	251.8	227.7	14.96
25.3	1.37285	1.1062	253.0	228.7	15.04
25.4	1.37302	1.1066	254.1	229.7	15.10
25.5	1.37319	1.1071	255.3	230.6	15.17
25.6	1.37337	1.1076	256.5	231.6	15.24
25.7	1.37354	1.1080	257.7	232.5	15.32
25.8	1.37372	1.1085	258.8	233.5	15.38
25.9	1.37389	1.1090	260.0	234.5	15.45
26.0	1.37407	1.1095	261.2	235.4	15.52
26.1	1.37424	1.1099	262.4	236.4	15.59
26.2	1.37441	1.1104	263.6	237.3	15.67
26.3	1.37459	1.1109	264.7	238.3	15.73
26.4	1.37476	1.1114	265.9	239.3	15.80
26.5	1.37494	1.1118	267.1	240.2	15.87
26.6	1.37511	1.1123	268.3	241.2	15.95
26.7	1.37529	1.1128	269.5	242.1	16.02
26.8	1.37546	1.1133	270.6	243.1	16.08
26.9	1.37564	1.1138	271.8	244.1	16.15
27.0	1.37582	1.1142	273.0	245.0	16.22
27.1	1.37599	1.1147	274.2	246.0	16.30
27.2	1.37617	1.1152	275.4	246.9	16.37
27.3	1.37634	1.1157	276.6	247.9	16.44
27.4	1.37652	1.1161	277.8	248.9	16.51
27.5	1.37670	1.1166	278.9	249.8	16.58
27.6	1.37687	1.1171	280.1	250.8	16.65
27.7	1.37705	1.1176	281.3	251.7	16.72
27.8	1.37723	1.1181	282.5	252.7	16.79
27.9	1.37740	1.1185	283.7	253.6	16.86
28.0	1.37758	1.1190	284.9	254.6	16.93
28.1	1.37776	1.1195	286.1	255.5	17.00
28.2	1.37793	1.1200	287.3	256.5	17.07
28.3	1.37811	1.1205	288.5	257.5	17.15
28.4	1.37829	1.1210	289.7	258.4	17.22
28.5	1.37847	1.1214	290.9	259.4	17.29
28.6	1.37864	1.1219	292.1	260.3	17.36
28.7	1.37882	1.1224	293.3	261.3	17.43
28.8	1.37900	1.1229	294.5	262.2	17.50
28.9	1.37918	1.1234	295.7	263.2	17.57
29.0	1.37936	1.1239	296.9	264.2	17.64
29.1	1.37954	1.1244	298.1	265.1	17.72
29.2	1.37972	1.1248	299.3	266.1	17.79
29.3	1.37989	1.1253	300.5	267.0	17.86
29.4	1.38007	1.1258	301.7	268.0	17.93
29.5	1.38025	1.1263	302.9	268.9	18.00
29.6	1.38043	1.1268	304.1	269.9	18.07
29.7	1.38061	1.1273	305.3	270.8	18.14
29.8	1.38079	1.1278	306.5	271.8	18.22
29.9	1.38097	1.1283	307.7	272.7	18.29

*Certified in conformity
Izmir, 22nd June 2012
The General Director of the OIV
Secretary of the General Assembly*

Federico CASTELLUCCI

TABLE II - (cont'd)

Saccharose % (m/m)	Refractive index at 20 °C	Density at 20 °C	Sugars in g/l	Sugars in g/kg	ABV % vol at 20 °C
30.0	1.38115	1.1287	308.9	273.7	18.36
30.1	1.38133	1.1292	310.1	274.6	18.43
30.2	1.38151	1.1297	311.3	275.6	18.50
30.3	1.38169	1.1302	312.6	276.5	18.58
30.4	1.38187	1.1307	313.8	277.5	18.65
30.5	1.38205	1.1312	315.0	278.5	18.72
30.6	1.38223	1.1317	316.2	279.4	18.79
30.7	1.38241	1.1322	317.4	280.4	18.86
30.8	1.38259	1.1327	318.6	281.3	18.93
30.9	1.38277	1.1332	319.8	282.3	19.01
31.0	1.38296	1.1337	321.1	283.2	19.08
31.1	1.38314	1.1342	322.3	284.2	19.15
31.2	1.38332	1.1346	323.5	285.1	19.23
31.3	1.38350	1.1351	324.7	286.1	19.30
31.4	1.38368	1.1356	325.9	287.0	19.37
31.5	1.38386	1.1361	327.2	288.0	19.45
31.6	1.38405	1.1366	328.4	288.9	19.52
31.7	1.38423	1.1371	329.6	289.9	19.59
31.8	1.38441	1.1376	330.8	290.8	19.66
31.9	1.38459	1.1381	332.1	291.8	19.74
32.0	1.38478	1.1386	333.3	292.7	19.81
32.1	1.38496	1.1391	334.5	293.7	19.88
32.2	1.38514	1.1396	335.7	294.6	19.95
32.3	1.38532	1.1401	337.0	295.6	20.03
32.4	1.38551	1.1406	338.2	296.5	20.10
32.5	1.38569	1.1411	339.4	297.5	20.17
32.6	1.38587	1.1416	340.7	298.4	20.25
32.7	1.38606	1.1421	341.9	299.4	20.32
32.8	1.38624	1.1426	343.1	300.3	20.39
32.9	1.38643	1.1431	344.4	301.3	20.47
33.0	1.38661	1.1436	345.6	302.2	20.54
33.1	1.38679	1.1441	346.8	303.2	20.61
33.2	1.38698	1.1446	348.1	304.1	20.69
33.3	1.38716	1.1451	349.3	305.0	20.76
33.4	1.38735	1.1456	350.6	306.0	20.84
33.5	1.38753	1.1461	351.8	306.9	20.91
33.6	1.38772	1.1466	353.0	307.9	20.98
33.7	1.38790	1.1471	354.3	308.8	21.06
33.8	1.38809	1.1476	355.5	309.8	21.13
33.9	1.38827	1.1481	356.8	310.7	21.20
34.0	1.38846	1.1486	358.0	311.7	21.28
34.1	1.38864	1.1491	359.2	312.6	21.35
34.2	1.38883	1.1496	360.5	313.6	21.42
34.3	1.38902	1.1501	361.7	314.5	21.50
34.4	1.38920	1.1507	363.0	315.5	21.57
34.5	1.38939	1.1512	364.2	316.4	21.64
34.6	1.38958	1.1517	365.5	317.4	21.72
34.7	1.38976	1.1522	366.7	318.3	21.79
34.8	1.38995	1.1527	368.0	319.2	21.87
34.9	1.39014	1.1532	369.2	320.2	21.94

*Certified in conformity
Izmir, 22nd June 2012
The General Director of the OIV
Secretary of the General Assembly*

Federico CASTELLUCCI

TABLE II - (cont'd)

Saccharose % (m/m)	Refractive index at 20 °C	Density at 20 °C	Sugars in g/l	Sugars in g/kg	ABV % vol at 20 °C
35.0	1.39032	1.1537	370,5	321.1	22,02
35.1	1.39051	1.1542	371,8	322.1	22,10
35.2	1.39070	1.1547	373,0	323.0	22,17
35.3	1.39088	1.1552	374,3	324.0	22,24
35.4	1.39107	1.1557	375,5	324.9	22,32
35.5	1.39126	1.1563	376,8	325.9	22,39
35.6	1.39145	1.1568	378,0	326.8	22,46
35.7	1.39164	1.1573	379,3	327.8	22,54
35.8	1.39182	1.1578	380,6	328.7	22,62
35.9	1.39201	1.1583	381,8	329.6	22,69
36.0	1.39220	1.1588	383,1	330.6	22,77
36.1	1.39239	1.1593	384,4	331.5	22,84
36.2	1.39258	1.1598	385,6	332.5	22,92
36.3	1.39277	1.1603	386,9	333.4	22,99
36.4	1.39296	1.1609	388,1	334.4	23,06
36.5	1.39314	1.1614	389,4	335.3	23,14
36.6	1.39333	1.1619	390,7	336.3	23,22
36.7	1.39352	1.1624	392,0	337.2	23,30
36.8	1.39371	1.1629	393,2	338.1	23,37
36.9	1.39390	1.1634	394,5	339.1	23,45
37.0	1.39409	1.1640	395,8	340.0	23,52
37.1	1.39428	1.1645	397,0	341.0	23,59
37.2	1.39447	1.1650	398,3	341.9	23,67
37.3	1.39466	1.1655	399,6	342.9	23,75
37.4	1.39485	1.1660	400,9	343.8	23,83
37.5	1.39504	1.1665	402,1	344.7	23,90
37.6	1.39524	1.1671	403,4	345.7	23,97
37.7	1.39543	1.1676	404,7	346.6	24,05
37.8	1.39562	1.1681	406,0	347.6	24,13
37.9	1.39581	1.1686	407,3	348.5	24,21
38.0	1.39600	1.1691	408,6	349.4	24,28
38.1	1.39619	1.1697	409,8	350.4	24,35
38.2	1.39638	1.1702	411,1	351.3	24,43
38.3	1.39658	1.1707	412,4	352.3	24,51
38.4	1.39677	1.1712	413,7	353.2	24,59
38.5	1.39696	1.1717	415,0	354.2	24,66
38.6	1.39715	1.1723	416,3	355.1	24,74
38.7	1.39734	1.1728	417,6	356.0	24,82
38.8	1.39754	1.1733	418,8	357.0	24,89
38.9	1.39773	1.1738	420,1	357.9	24,97
39.0	1.39792	1.1744	421,4	358.9	25,04
39.1	1.39812	1.1749	422,7	359.8	25,12
39.2	1.39831	1.1754	424,0	360.7	25,20
39.3	1.39850	1.1759	425,3	361.7	25,28
39.4	1.39870	1.1765	426,6	362.6	25,35
39.5	1.39889	1.1770	427,9	363.6	25,43
39.6	1.39908	1.1775	429,2	364.5	25,51
39.7	1.39928	1.1780	430,5	365.4	25,58
39.8	1.39947	1.1786	431,8	366.4	25,66
39.9	1.39967	1.1791	433,1	367.3	25,74

*Certified in conformity
Izmir, 22nd June 2012
The General Director of the OIV
Secretary of the General Assembly*

Federico CASTELLUCCI

TABLE II - (cont'd)

Saccharose % (m/m)	Refractive index at 20 °C	Density at 20 °C	Sugars in g/l	Sugars in g/kg	ABV % vol at 20 °C
40.0	1.39986	1.1796	434.4	368.3	25.82
40.1	1.40006	1.1801	435.7	369.2	25.89
40.2	1.40025	1.1807	437.0	370.1	25.97
40.3	1.40044	1.1812	438.3	371.1	26.05
40.4	1.40064	1.1817	439.6	372.0	26.13
40.5	1.40083	1.1823	440.9	373.0	26.20
40.6	1.40103	1.1828	442.2	373.9	26.28
40.7	1.40123	1.1833	443.6	374.8	26.36
40.8	1.40142	1.1839	444.9	375.8	26.44
40.9	1.40162	1.1844	446.2	376.7	26.52
41.0	1.40181	1.1849	447.5	377.7	26.59
41.1	1.40201	1.1855	448.8	378.6	26.67
41.2	1.40221	1.1860	450.1	379.5	26.75
41.3	1.40240	1.1865	451.4	380.5	26.83
41.4	1.40260	1.1871	452.8	381.4	26.91
41.5	1.40280	1.1876	454.1	382.3	26.99
41.6	1.40299	1.1881	455.4	383.3	27.06
41.7	1.40319	1.1887	456.7	384.2	27.14
41.8	1.40339	1.1892	458.0	385.2	27.22
41.9	1.40358	1.1897	459.4	386.1	27.30
42.0	1.40378	1.1903	460.7	387.0	27.38
42.1	1.40398	1.1908	462.0	388.0	27.46
42.2	1.40418	1.1913	463.3	388.9	27.53
42.3	1.40437	1.1919	464.7	389.9	27.62
42.4	1.40457	1.1924	466.0	390.8	27.69
42.5	1.40477	1.1929	467.3	391.7	27.77
42.6	1.40497	1.1935	468.6	392.7	27.85
42.7	1.40517	1.1940	470.0	393.6	27.93
42.8	1.40537	1.1946	471.3	394.5	28.01
42.9	1.40557	1.1951	472.6	395.5	28.09
43.0	1.40576	1.1956	474.0	396.4	28.17
43.1	1.40596	1.1962	475.3	397.3	28.25
43.2	1.40616	1.1967	476.6	398.3	28.32
43.3	1.40636	1.1973	478.0	399.2	28.41
43.4	1.40656	1.1978	479.3	400.2	28.48
43.5	1.40676	1.1983	480.7	401.1	28.57
43.6	1.40696	1.1989	482.0	402.0	28.65
43.7	1.40716	1.1994	483.3	403.0	28.72
43.8	1.40736	1.2000	484.7	403.9	28.81
43.9	1.40756	1.2005	486.0	404.8	28.88
44.0	1.40776	1.2011	487.4	405.8	28.97
44.1	1.40796	1.2016	488.7	406.7	29.04
44.2	1.40817	1.2022	490.1	407.6	29.13
44.3	1.40837	1.2027	491.4	408.6	29.20
44.4	1.40857	1.2032	492.8	409.5	29.29
44.5	1.40877	1.2038	494.1	410.4	29.36
44.6	1.40897	1.2043	495.5	411.4	29.45
44.7	1.40917	1.2049	496.8	412.3	29.52
44.8	1.40937	1.2054	498.2	413.3	29.61
44.9	1.40958	1.2060	499.5	414.2	29.69

*Certified in conformity
Izmir, 22nd June 2012
The General Director of the OIV
Secretary of the General Assembly*

Federico CASTELLUCCI

TABLE II - (cont'd)

Saccharose % (m/m)	Refractive index at 20 °C	Density at 20 °C	Sugars in g/l	Sugars in g/kg	ABV % vol at 20 °C
45.0	1.40978	1.2065	500.9	415.1	29.77
45.1	1.40998	1.2071	502.2	416.1	29.85
45.2	1.41018	1.2076	503.6	417.0	29.93
45.3	1.41039	1.2082	504.9	417.9	30.01
45.4	1.41059	1.2087	506.3	418.9	30.09
45.5	1.41079	1.2093	507.7	419.8	30.17
45.6	1.41099	1.2098	509.0	420.7	30.25
45.7	1.41120	1.2104	510.4	421.7	30.33
45.8	1.41140	1.2109	511.7	422.6	30.41
45.9	1.41160	1.2115	513.1	423.5	30.49
46.0	1.41181	1.2120	514.5	424.5	30.58
46.1	1.41201	1.2126	515.8	425.4	30.65
46.2	1.41222	1.2131	517.2	426.3	30.74
46.3	1.41242	1.2137	518.6	427.3	30.82
46.4	1.41262	1.2142	519.9	428.2	30.90
46.5	1.41283	1.2148	521.3	429.1	30.98
46.6	1.41303	1.2154	522.7	430.1	31.06
46.7	1.41324	1.2159	524.1	431.0	31.15
46.8	1.41344	1.2165	525.4	431.9	31.22
46.9	1.41365	1.2170	526.8	432.9	31.31
47.0	1.41385	1.2176	528.2	433.8	31.39
47.1	1.41406	1.2181	529.6	434.7	31.47
47.2	1.41427	1.2187	530.9	435.7	31.55
47.3	1.41447	1.2192	532.3	436.6	31.63
47.4	1.41468	1.2198	533.7	437.5	31.72
47.5	1.41488	1.2204	535.1	438.5	31.80
47.6	1.41509	1.2209	536.5	439.4	31.88
47.7	1.41530	1.2215	537.9	440.3	31.97
47.8	1.41550	1.2220	539.2	441.3	32.04
47.9	1.41571	1.2226	540.6	442.2	32.13
48.0	1.41592	1.2232	542.0	443.1	32.21
48.1	1.41612	1.2237	543.4	444.1	32.29
48.2	1.41633	1.2243	544.8	445.0	32.38
48.3	1.41654	1.2248	546.2	445.9	32.46
48.4	1.41674	1.2254	547.6	446.8	32.54
48.5	1.41695	1.2260	549.0	447.8	32.63
48.6	1.41716	1.2265	550.4	448.7	32.71
48.7	1.41737	1.2271	551.8	449.6	32.79
48.8	1.41758	1.2277	553.2	450.6	32.88
48.9	1.41779	1.2282	554.6	451.5	32.96
49.0	1.41799	1.2288	556.0	452.4	33.04
49.1	1.41820	1.2294	557.4	453.4	33.13
49.2	1.41841	1.2299	558.8	454.3	33.21
49.3	1.41862	1.2305	560.2	455.2	33.29
49.4	1.41883	1.2311	561.6	456.2	33.38
49.5	1.41904	1.2316	563.0	457.1	33.46
49.6	1.41925	1.2322	564.4	458.0	33.54
49.7	1.41946	1.2328	565.8	458.9	33.63
49.8	1.41967	1.2333	567.2	459.9	33.71
49.9	1.41988	1.2339	568.6	460.8	33.79

*Certified in conformity
Izmir, 22nd June 2012
The General Director of the OIV
Secretary of the General Assembly*

Federico CASTELLUCCI

TABLE II - (cont'd)

Saccharose % (m/m)	Refractive index at 20 °C	Density at 20 °C	Sugars in g/l	Sugars in g/kg	ABV % vol at 20 °C
50.0	1.42009	1.2345	570.0	461.7	33.88
50.1	1.42030	1.2350	571.4	462.7	33.96
50.2	1.42051	1.2356	572.8	463.6	34.04
50.3	1.42072	1.2362	574.2	464.5	34.12
50.4	1.42093	1.2368	575.6	465.4	34.21
50.5	1.42114	1.2373	577.1	466.4	34.30
50.6	1.42135	1.2379	578.5	467.3	34.38
50.7	1.42156	1.2385	579.9	468.2	34.46
50.8	1.42177	1.2390	581.3	469.2	34.55
50.9	1.42199	1.2396	582.7	470.1	34.63
51.0	1.42220	1.2402	584.2	471.0	34.72
51.1	1.42241	1.2408	585.6	471.9	34.80
51.2	1.42262	1.2413	587.0	472.9	34.89
51.3	1.42283	1.2419	588.4	473.8	34.97
51.4	1.42305	1.2425	589.9	474.7	35.06
51.5	1.42326	1.2431	591.3	475.7	35.14
51.6	1.42347	1.2436	592.7	476.6	35.22
51.7	1.42368	1.2442	594.1	477.5	35.31
51.8	1.42390	1.2448	595.6	478.4	35.40
51.9	1.42411	1.2454	597.0	479.4	35.48
52.0	1.42432	1.2460	598.4	480.3	35.56
52.1	1.42454	1.2465	599.9	481.2	35.65
52.2	1.42475	1.2471	601.3	482.1	35.74
52.3	1.42496	1.2477	602.7	483.1	35.82
52.4	1.42518	1.2483	604.2	484.0	35.91
52.5	1.42539	1.2488	605.6	484.9	35.99
52.6	1.42561	1.2494	607.0	485.8	36.07
52.7	1.42582	1.2500	608.5	486.8	36.16
52.8	1.42604	1.2506	609.9	487.7	36.25
52.9	1.42625	1.2512	611.4	488.6	36.34
53.0	1.42647	1.2518	612.8	489.5	36.42
53.1	1.42668	1.2523	614.2	490.5	36.50
53.2	1.42690	1.2529	615.7	491.4	36.59
53.3	1.42711	1.2535	617.1	492.3	36.67
53.4	1.42733	1.2541	618.6	493.2	36.76
53.5	1.42754	1.2547	620.0	494.2	36.85
53.6	1.42776	1.2553	621.5	495.1	36.94
53.7	1.42798	1.2558	622.9	496.0	37.02
53.8	1.42819	1.2564	624.4	496.9	37.11
53.9	1.42841	1.2570	625.8	497.9	37.19
54.0	1.42863	1.2576	627.3	498.8	37.28
54.1	1.42884	1.2582	628.7	499.7	37.36
54.2	1.42906	1.2588	630.2	500.6	37.45
54.3	1.42928	1.2594	631.7	501.6	37.54
54.4	1.42949	1.2600	633.1	502.5	37.63
54.5	1.42971	1.2606	634.6	503.4	37.71
54.6	1.42993	1.2611	636.0	504.3	37.80
54.7	1.43015	1.2617	637.5	505.2	37.89
54.8	1.43036	1.2623	639.0	506.2	37.98
54.9	1.43058	1.2629	640.4	507.1	38.06

*Certified in conformity
Izmir, 22nd June 2012
The General Director of the OIV
Secretary of the General Assembly*

Federico CASTELLUCCI

TABLE II - (cont'd)

Saccharose % (m/m)	Refractive index at 20 °C	Density at 20 °C	Sugars in g/l	Sugars in g/kg	ABV % vol at 20 °C
55.0	1.43080	1.2635	641.9	508.0	38.15
55.1	1.43102	1.2641	643.4	508.9	38.24
55.2	1.43124	1.2647	644.8	509.9	38.32
55.3	1.43146	1.2653	646.3	510.8	38.41
55.4	1.43168	1.2659	647.8	511.7	38.50
55.5	1.43189	1.2665	649.2	512.6	38.58
55.6	1.43211	1.2671	650.7	513.5	38.67
55.7	1.43233	1.2677	652.2	514.5	38.76
55.8	1.43255	1.2683	653.7	515.4	38.85
55.9	1.43277	1.2689	655.1	516.3	38.93
56.0	1.43299	1.2695	656.6	517.2	39.02
56.1	1.43321	1.2701	658.1	518.1	39.11
56.2	1.43343	1.2706	659.6	519.1	39.20
56.3	1.43365	1.2712	661.0	520.0	39.28
56.4	1.43387	1.2718	662.5	520.9	39.37
56.5	1.43410	1.2724	664.0	521.8	39.46
56.6	1.43432	1.2730	665.5	522.7	39.55
56.7	1.43454	1.2736	667.0	523.7	39.64
56.8	1.43476	1.2742	668.5	524.6	39.73
56.9	1.43498	1.2748	669.9	525.5	39.81
57.0	1.43520	1.2754	671.4	526.4	39.90
57.1	1.43542	1.2760	672.9	527.3	39.99
57.2	1.43565	1.2766	674.4	528.3	40.08
57.3	1.43587	1.2773	675.9	529.2	40.17
57.4	1.43609	1.2779	677.4	530.1	40.26
57.5	1.43631	1.2785	678.9	531.0	40.35
57.6	1.43653	1.2791	680.4	531.9	40.44
57.7	1.43676	1.2797	681.9	532.8	40.53
57.8	1.43698	1.2803	683.4	533.8	40.61
57.9	1.43720	1.2809	684.9	534.7	40.70
58.0	1.43743	1.2815	686.4	535.6	40.79
58.1	1.43765	1.2821	687.9	536.5	40.88
58.2	1.43787	1.2827	689.4	537.4	40.97
58.3	1.43810	1.2833	690.9	538.3	41.06
58.4	1.43832	1.2839	692.4	539.3	41.15
58.5	1.43855	1.2845	693.9	540.2	41.24
58.6	1.43877	1.2851	695.4	541.1	41.33
58.7	1.43899	1.2857	696.9	542.0	41.42
58.8	1.43922	1.2863	698.4	542.9	41.51
58.9	1.43944	1.2870	699.9	543.8	41.60
59.0	1.43967	1.2876	701.4	544.8	41.68
59.1	1.43989	1.2882	702.9	545.7	41.77
59.2	1.44012	1.2888	704.4	546.6	41.86
59.3	1.44035	1.2894	706.0	547.5	41.96
59.4	1.44057	1.2900	707.5	548.4	42.05
59.5	1.44080	1.2906	709.0	549.3	42.14
59.6	1.44102	1.2912	710.5	550.2	42.23
59.7	1.44125	1.2919	712.0	551.1	42.31
59.8	1.44148	1.2925	713.5	552.1	42.40
59.9	1.44170	1.2931	715.1	553.0	42.50

*Certified in conformity
Izmir, 22nd June 2012
The General Director of the OIV
Secretary of the General Assembly*

Federico CASTELLUCCI

TABLE II - (cont'd)

Saccharose % (m/m)	Refractive index at 20 °C	Density at 20 °C	Sugars in g/l	Sugars in g/kg	ABV % vol at 20 °C
60.0	1.44193	1.2937	716.6	553.9	42.59
60.1	1.44216	1.2943	718.1	554.8	42.68
60.2	1.44238	1.2949	719.6	555.7	42.77
60.3	1.44261	1.2956	721.1	556.6	42.85
60.4	1.44284	1.2962	722.7	557.5	42.95
60.5	1.44306	1.2968	724.2	558.4	43.04
60.6	1.44329	1.2974	725.7	559.4	43.13
60.7	1.44352	1.2980	727.3	560.3	43.22
60.8	1.44375	1.2986	728.8	561.2	43.31
60.9	1.44398	1.2993	730.3	562.1	43.40
61.0	1.44420	1.2999	731.8	563.0	43.49
61.1	1.44443	1.3005	733.4	563.9	43.59
61.2	1.44466	1.3011	734.9	564.8	43.68
61.3	1.44489	1.3017	736.4	565.7	43.76
61.4	1.44512	1.3024	738.0	566.6	43.86
61.5	1.44535	1.3030	739.5	567.6	43.95
61.6	1.44558	1.3036	741.1	568.5	44.04
61.7	1.44581	1.3042	742.6	569.4	44.13
61.8	1.44604	1.3049	744.1	570.3	44.22
61.9	1.44627	1.3055	745.7	571.2	44.32
62.0	1.44650	1.3061	747.2	572.1	44.41
62.1	1.44673	1.3067	748.8	573.0	44.50
62.2	1.44696	1.3074	750.3	573.9	44.59
62.3	1.44719	1.3080	751.9	574.8	44.69
62.4	1.44742	1.3086	753.4	575.7	44.77
62.5	1.44765	1.3092	755.0	576.6	44.87
62.6	1.44788	1.3099	756.5	577.5	44.96
62.7	1.44811	1.3105	758.1	578.5	45.05
62.8	1.44834	1.3111	759.6	579.4	45.14
62.9	1.44858	1.3118	761.2	580.3	45.24
63.0	1.44881	1.3124	762.7	581.2	45.33
63.1	1.44904	1.3130	764.3	582.1	45.42
63.2	1.44927	1.3137	765.8	583.0	45.51
63.3	1.44950	1.3143	767.4	583.9	45.61
63.4	1.44974	1.3149	769.0	584.8	45.70
63.5	1.44997	1.3155	770.5	585.7	45.79
63.6	1.45020	1.3162	772.1	586.6	45.89
63.7	1.45043	1.3168	773.6	587.5	45.98
63.8	1.45067	1.3174	775.2	588.4	46.07
63.9	1.45090	1.3181	776.8	589.3	46.17
64.0	1.45113	1.3187	778.3	590.2	46.25
64.1	1.45137	1.3193	779.9	591.1	46.35
64.2	1.45160	1.3200	781.5	592.0	46.44
64.3	1.45184	1.3206	783.0	592.9	46.53
64.4	1.45207	1.3213	784.6	593.8	46.63
64.5	1.45230	1.3219	786.2	594.7	46.72
64.6	1.45254	1.3225	787.8	595.6	46.82
64.7	1.45277	1.3232	789.3	596.5	46.91
64.8	1.45301	1.3238	790.9	597.4	47.00
64.9	1.45324	1.3244	792.5	598.3	47.10

*Certified in conformity
Izmir, 22nd June 2012
The General Director of the OIV
Secretary of the General Assembly*

Federico CASTELLUCCI

TABLE II - (cont'd)

Saccharose % (m/m)	Refractive index at 20 °C	Density at 20 °C	Sugars in g/l	Sugars in g/kg	ABV % vol at 20 °C
65.0	1.45348	1.3251	794.1	599.3	47.19
65.1	1.45371	1.3257	795.6	600.2	47.28
65.2	1.45395	1.3264	797.2	601.1	47.38
65.3	1.45418	1.3270	798.8	602.0	47.47
65.4	1.45442	1.3276	800.4	602.9	47.57
65.5	1.45466	1.3283	802.0	603.8	47.66
65.6	1.45489	1.3289	803.6	604.7	47.76
65.7	1.45513	1.3296	805.1	605.6	47.85
65.8	1.45537	1.3302	806.7	606.5	47.94
65.9	1.45560	1.3309	808.3	607.4	48.04
66.0	1.45584	1.3315	809.9	608.3	48.13
66.1	1.45608	1.3322	811.5	609.2	48.23
66.2	1.45631	1.3328	813.1	610.1	48.32
66.3	1.45655	1.3334	814.7	611.0	48.42
66.4	1.45679	1.3341	816.3	611.9	48.51
66.5	1.45703	1.3347	817.9	612.8	48.61
66.6	1.45726	1.3354	819.5	613.7	48.70
66.7	1.45750	1.3360	821.1	614.6	48.80
66.8	1.45774	1.3367	822.7	615.5	48.89
66.9	1.45798	1.3373	824.3	616.3	48.99
67.0	1.45822	1.3380	825.9	617.2	49.08
67.1	1.45846	1.3386	827.5	618.1	49.18
67.2	1.45870	1.3393	829.1	619.0	49.27
67.3	1.45893	1.3399	830.7	619.9	49.37
67.4	1.45917	1.3406	832.3	620.8	49.46
67.5	1.45941	1.3412	833.9	621.7	49.56
67.6	1.45965	1.3419	835.5	622.6	49.65
67.7	1.45989	1.3425	837.1	623.5	49.75
67.8	1.46013	1.3432	838.7	624.4	49.84
67.9	1.46037	1.3438	840.3	625.3	49.94
68.0	1.46061	1.3445	841.9	626.2	50.03
68.1	1.46085	1.3451	843.6	627.1	50.14
68.2	1.46109	1.3458	845.2	628.0	50.23
68.3	1.46134	1.3464	846.8	628.9	50.33
68.4	1.46158	1.3471	848.4	629.8	50.42
68.5	1.46182	1.3478	850.0	630.7	50.52
68.6	1.46206	1.3484	851.6	631.6	50.61
68.7	1.46230	1.3491	853.3	632.5	50.71
68.8	1.46254	1.3497	854.9	633.4	50.81
68.9	1.46278	1.3504	856.5	634.3	50.90
69.0	1.46303	1.3510	858.1	635.2	51.00
69.1	1.46327	1.3517	859.8	636.1	51.10
69.2	1.46351	1.3524	861.4	636.9	51.19
69.3	1.46375	1.3530	863.0	637.8	51.29
69.4	1.46400	1.3537	864.7	638.7	51.39
69.5	1.46424	1.3543	866.3	639.6	51.48
69.6	1.46448	1.3550	867.9	640.5	51.58
69.7	1.46473	1.3557	869.5	641.4	51.67
69.8	1.46497	1.3563	871.2	642.3	51.78
69.9	1.46521	1.3570	872.8	643.2	51.87

*Certified in conformity
Izmir, 22nd June 2012
The General Director of the OIV
Secretary of the General Assembly*

Federico CASTELLUCCI

TABLE II - (cont'd)

Saccharose % (m/m)	Refractive index at 20 °C	Density at 20 °C	Sugars in g/l	Sugars in g/kg	ABV % vol at 20 °C
70.0	1.46546	1.3576	874.5	644.1	51.97
70.1	1.46570	1.3583	876.1	645.0	52.07
70.2	1.46594	1.3590	877.7	645.9	52.16
70.3	1.46619	1.3596	879.4	646.8	52.26
70.4	1.46643	1.3603	881.0	647.7	52.36
70.5	1.46668	1.3610	882.7	648.5	52.46
70.6	1.46692	1.3616	884.3	649.4	52.55
70.7	1.46717	1.3623	886.0	650.3	52.65
70.8	1.46741	1.3630	887.6	651.2	52.75
70.9	1.46766	1.3636	889.3	652.1	52.85
71.0	1.46790	1.3643	890.9	653.0	52.95
71.1	1.46815	1.3650	892.6	653.9	53.05
71.2	1.46840	1.3656	894.2	654.8	53.14
71.3	1.46864	1.3663	895.9	655.7	53.24
71.4	1.46889	1.3670	897.5	656.6	53.34
71.5	1.46913	1.3676	899.2	657.5	53.44
71.6	1.46938	1.3683	900.8	658.3	53.53
71.7	1.46963	1.3690	902.5	659.2	53.64
71.8	1.46987	1.3696	904.1	660.1	53.73
71.9	1.47012	1.3703	905.8	661.0	53.83
72.0	1.47037	1.3710	907.5	661.9	53.93
72.1	1.47062	1.3717	909.1	662.8	54.03
72.2	1.47086	1.3723	910.8	663.7	54.13
72.3	1.47111	1.3730	912.5	664.6	54.23
72.4	1.47136	1.3737	914.1	665.5	54.32
72.5	1.47161	1.3743	915.8	666.3	54.43
72.6	1.47186	1.3750	917.5	667.2	54.53
72.7	1.47210	1.3757	919.1	668.1	54.62
72.8	1.47235	1.3764	920.8	669.0	54.72
72.9	1.47260	1.3770	922.5	669.9	54.82
73.0	1.47285	1.3777	924.2	670.8	54.93
73.1	1.47310	1.3784	925.8	671.7	55.02
73.2	1.47335	1.3791	927.5	672.6	55.12
73.3	1.47360	1.3797	929.2	673.5	55.22
73.4	1.47385	1.3804	930.9	674.3	55.32
73.5	1.47410	1.3811	932.6	675.2	55.42
73.6	1.47435	1.3818	934.3	676.1	55.53
73.7	1.47460	1.3825	935.9	677.0	55.62
73.8	1.47485	1.3831	937.6	677.9	55.72
73.9	1.47510	1.3838	939.3	678.8	55.82
74.0	1.47535	1.3845	941.0	679.7	55.92
74.1	1.47560	1.3852	942.7	680.6	56.02
74.2	1.47585	1.3859	944.4	681.4	56.13
74.3	1.47610	1.3865	946.1	682.3	56.23
74.4	1.47635	1.3872	947.8	683.2	56.33
74.5	1.47661	1.3879	949.5	684.1	56.43
74.6	1.47686	1.3886	951.2	685.0	56.53
74.7	1.47711	1.3893	952.9	685.9	56.63
74.8	1.47736	1.3899	954.6	686.8	56.73
74.9	1.47761	1.3906	956.3	687.7	56.83

*Certified in conformity
Izmir, 22nd June 2012
The General Director of the OIV
Secretary of the General Assembly*

Federico CASTELLUCCI